Aus der Kgl. Universitäts-Kinderklinik in München.
(Vorstand: Professor Dr. M. v. Pfaundler.)

Biologische Untersuchungen zur Caseinfrage.

■ ■ ■

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der
gesamten Medizin
verfasst und einer
hohen medizinischen Fakultät
der
Kgl. bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Schlema Liwschiz
Rußland.

■ ■ ■

München 1913.
RUDOLPH MÜLLER & STEINICKE.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent: Herr Prof. Dr. M. v. Pfaundler.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Biologische Untersuchungen zur Caseinfrage.

■ ■ ■

1. Casein oder Paracasein?
2. Nachweis von Casein in den Faeces gedeihender Kinder.

■ ■ ■

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548312_0018

Die zwei Fragen, welche den Untertitel der vorliegenden Arbeit bilden, waren von Uffenheimer und Takeno am Schlusse ihrer Arbeit über den Nachweis von Casein in den „sogenannten" Caseinbröckeln des Säuglingsstuhles gestellt worden (1).

Herr Privatdozent Dr. Uffenheimer gab mir die Aufgabe Versuche zu ihrer exacten Beantwortung zu unternehmen. Bevor ich mit der Schilderung meiner Experimente beginne, möchte ich kurz den Inhalt der obengenannten Arbeit rekapitulieren.

Die genaue Zusammensetzung der „sogenannten" Caseinbröckeln war unbekannt und die damals vorliegenden Versuche konnten darüber keine völlige Klarheit verschaffen. Auch die von Hamburger (2) und Knoepfelmacher (3) angewandte Methodik (Praecipitation) hatte lediglich negative Resultate ergeben. Nur Talbot (4) hat bei den von ihm beobachteten, damals noch für recht selten gehaltenen großen grammschweren Bröckeln („Materia suspecta") mit Hilfe dieser Methode einen positiven Befund erhoben.

Uffenheimer und Takeno (1) haben schon vor dem Bekanntwerden der Talbot'schen Arbeiten ausgedehnte Versuche mittelst der biologischen Methodik begonnen und zwar wurde die anaphylactische und die Praecipitations-Probe angewandt.

Aus dem Stuhlmaterial der Säuglingsstation der Kinderklinik wurden unter Zuhilfenahme des Mikroskopes und einfacher chemischer Reactionen die geeignetsten „Caseinbröckel" ausgewählt. Nach sorgfältig und mit allen Kautellen vorgenommener Bearbeitung der Caseinbröckel wurden mit den gewonnenen Filtraten Meerschweinchen intravenös und subcutan sensibilisiert. Die Reinjection wurde nach Ablauf von 3 Wochen vorgenommen und zwar mit einer Milchverdünnung 1:5, nur bei wenigen Tieren mit einer Casein — $n/_{10}$ Na OH-Lösung. Eine Reihe von Versuchen wurden ausgeführt, die genügende Sicherheit gaben, daß die Einspritzung der zur Reinjection verwerteten Flüssigkeiten an und für sich nicht anaphylaxieähnliche Symptome geben.

Es wurden insgesamt 66 Meerschweinchen mit Filtraten und Aufschwemmungen von Caseinbröckeln sensibilisiert (davon 40 intravenös, 26 subcutan); mit Frauenmilchbröckeln wurden nur 5 Meerschweinchen sensibilisiert (davon 3 intravenös, 2 subcutan). Diese Bröckel stammten von 24 Kindern; 22 wurden mit Kuhmilchmischungen verschiedenster Art ernährt. Bei 9 dieser 22 Kinder ließ sich im ganzen 26 mal das Casein in den Bröckeln mit Hilfe der anaphylactischen Methode nachweisen. Bei den 2 mit Frauenmilch ernährten Kindern ergab die gleiche Probe stets negatives Resultat. Als die eben beschriebenen Versuche an weiteren 5 Tieren in umgekehrter Reihenfolge vorgenommen wurden — Milchverdünnungen resp. Caseinlösung zur Sensibilisierung und Bröckelfiltrat zur Reinjection — ergaben sie fast durchweg positive Resultate. Mit der Praecipitationsmethode waren zuerst höchstens ausnahmsweise sichere positive Resultate erzielt worden, da das Lactoserum nicht hochwertig war; erst nach späterer Gewinnung eines sehr starken Lactoserums (1:3000) ergaben sich unter 44 Versuchen, die an 14 Kindern (darunter 4 zurzeit nur mit Frauenmilch ernährt; 7 Prüfungen ihrer Bröckel — 7 negative Resultate) vorgenommen wurden, 17 positive Resultate bei 5 von diesen Kindern. Da der größere Teil all der Säuglinge, die mit den beiden Proben positive Resultate gaben, an Ernährungsstörungen der verschiedensten Art litt, und die übrigen fast ausnahmslos schlechte Stühle hatten, so meinten die Autoren, daß nach all dem Vorgebrachten sich nicht mehr bezweifeln läßt, „daß sich in den Stuhlbröckeln kranker, mit Kuhmilchmischungen ernährter Säuglinge nicht gar so selten Casein findet."

Wie ich schon oben erwähnt habe, stellen die Autoren am Schluß ihrer Arbeit folgende Fragen auf: „Ist das, was in den Bröckeln nachgewiesen wurde, unverändertes Casein, das durch irgendwelche besonderen Verhältnisse der Labung entgangen ist, oder ist es Paracasein — und gibt diese Substanz die gleichen biologischen Reactionen, wie das native Casein?" Und weiter: „Die zweite Frage, die man sich wird vorlegen wollen, ist die nach der Bedeutung des Caseins in den Stuhlbröckeln... Es ist fraglich, wie die Verhältnisse bei ganz gesunden, oder scheinbar gesunden Säuglingen liegen."

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich also mit der Beantwortung dieser zwei Fragen. Zuerst war die erste Frage zu lösen, und dazu sollte die Möglichkeit einer biologischen Differenzierung von Casein und Paracasein festgestellt werden. Ich habe mich für die Beantwortung der Frage der drei biologischen

Untersuchungsmethoden bedient: der Praecipitation, der Complementbindung und der Anaphylaxie.

Ehe ich zur Schilderung dieser eigenen Versuche übergehe, möchte ich möglichst kurz die Arbeiten von anderen Autoren auf diesem Gebiete besprechen.

Zunächst noch ein paar Worte über die chemische Natur von Casein und Paracasein.

Die mittlere chemische Zusammensetzung der Kuhmilch ist nach Kirchner (5) folgende:

Wasser	87,80 Proz.	
Trockensubstanz	12,20 „	
Fett	3,40 Proz.	
Casein	2,70 „	kann auch bis 4,5 Proz. aufsteigen.
Albumin und Lactoglobulin	0,50 Proz.	
Sonstige N-haltige Stoffe	0,20 Proz.	
Milchzucker	4,70 „	
Asche	0,70 „	

Bekanntlich ist die Colostralmilch durch ihren hohen Gehalt an Albumin und Globulin ausgezeichnet. So enthalten nach König (6) 100 Teile Colostrum im Mittel.

Wasser	74,67 Proz.
Feste Stoffe	25,33 „
Albumin und Globulin	13,60 „

Wenn wir die Zahlen der Elementaranalyse der Frauenmilch mit denen der Kuhmilch vergleichen, so ist nach König (l. c. S. 598) der Caseingehalt auffallend gering: 0,80 Proz. mittlerer Gehalt der Frauenmilch, während der Albumingehalt dagegen erheblich höher ist: 1,21 Proz. mittlerer Gehalt.

Um diese Tatsachen anschaulicher zu machen, können wir folgendes Verhältnis aufstellen: in der Frauenmilch verhält sich das Casein zu Albumin und Globulin wie 40:60, in der Kuhmilch — wie 85:15.

Bekanntlich wird die Milch gleich nach der Aufnahme in den Säuglingsmagen durch das Labferment gefällt. Das Phänomen der Milchgerinnung durch Lab ist vielseitig von verschiedenen Autoren erforscht worden; auch die neuesten Untersuchungen bestätigen im wesentlichen die klassischen Arbeiten Hammarsten's (7, 8, 9, Autoreferate).

Nach Hammarsten wird bei der Labgerinnung der Milch unter dem Einfluß von Kalksalzen das Casein in das Paracasein

umgewandelt. Viele Autoren haben sich mit Entscheidung der Frage beschäftigt, ob sich das Casein bei dem Prozeß der Labgerinnung spaltet, oder ob nur eine unbekannte Umwandlung des Caseins vorliegt. Hammarsten will hier eine hydrolytische Spaltung des Caseinmoleküls sehen, wobei sich Paracasein und ein gelöstes Protein, das Molkeneiweiß bildet. Hillmann (10) fand hohe Prozentsätze des Caseins nach der Labung — als Paracasein — wieder und glaubt damit bewiesen zu haben, daß bei der Gerinnung es sich lediglich um eine intramolekuläre Umwandlung des Caseins handle. Fuld (11) und neuerdings Hammarsten konnten wieder zeigen, daß doch eine Spaltung des Caseinmoleküls vorliegt und daß sich nach der Labgerinnung ein albumosenähnlicher Körper bildet. Auch Spiro (12) konnte das Auftreten von Albumosen bei der Einwirkung von Lab auf reines Casein feststellen.

Die Elementaranalyse des Caseins und des Paracaseins ergibt keine großen Unterschiede, wie es aus der folgenden Zusammenstellung, die Schloßmann—Engel (13) entnommen wurde, zu sehen ist:

	C	H	N	S	O	P
Casein (nach Röhmann)	53,0	7,0	15,7	0,76	22,69	0,85
Paracasein (nach Rose-Schulze)	53,94	7,14	15,14	1,01	22,77	nicht bestimmt
Paracasein (nach Köster)	50,37	7,04	13,38	nicht bestimmt.		
Paracasein (nach Raudnitz)	—	—	ca 15	—	—	0,66—0,84

Obwohl ihrer chemischen Zusammensetzung nach diese beiden Stoffe keine wesentlichen Unterschiede aufweisen, sind doch eine Anzahl von Eigenschaften bekannt, die sie deutlich voneinander unterscheiden: so ihr Verhalten zu fällenden Factoren. Das Paracasein zeichnet sich durch sein leichtes Ausfallen aus auch bei solchen Umständen, bei welchen das Casein nicht fällt (niederere Temperaturgrade, geringere Alkohol- und Säureconcentration usw.).

Nach der Besprechung der chemischen Differenzen von Casein und Paracasein möchte ich noch die biologischen Arbeiten über den gleichen Punkt anführen.

In der ganzen Literatur über die Biologie der Milch, ist sehr wenig über die uns interessierende Frage zu finden. Ich kann nur auf die Arbeiten von P. Th. Müller (14, 15) hinweisen, der zuerst eine Differenzierung von Casein und Para-

casein auf biologischem Wege mittels der Praecipitationsmethode durchzuführen versuchte, und auf die Arbeiten von J. Bauer (16, 17, 18, 19), der dieselbe Frage mit der Complementbindungsmethode zu lösen versuchte.

P. Th. Müller hat sich die Aufgabe gestellt, die Frage zu beantworten, „ob auch die mit den betreffenden haptoforen Gruppen behafteten Trümmer des Caseinmoleküls noch eine ähnliche Reaction im Organismus hervorzurufen vermögen, wie das ursprüngliche Casein“ (15, l. c. 522). Unter verschiedenen Caseinderivaten, mit welchen P. Th. Müller Versuche anstellte zur Entscheidung dieser Frage, war auch das uns interessierende Paracasein. Da die Technik der Gewinnung des Paracaseins von der meinigen verschieden ist, so möchte ich sie hier anführen. „Frische Milch wurde auf das dreifache Volumen mit Wasser verdünnt, mit Essigsäure gefällt und die Fällung durch Centrifugieren von der Flüssigkeit getrennt. Durch Zusatz ammoniakalischen Wassers wurde dann der Niederschlag bei neutraler Reaction in Lösung gebracht und auf das ursprüngliche Volumen der Milch aufgefüllt. Endlich wurde etwas Labessenz hinzugefügt, einige Zeit auf 40° erwärmt und dann stets, zur Zerstörung des Fermentes, aufgekocht“ (l. c. S. 526).

Auf diesem Wege gewonnenes Paracasein wurde zur Herstellung eines Paracaseinserums verwendet. Nachher wurden vergleichende Versuche mit Lacto- und Paracaseinserum angestellt. Es hat sich herausgestellt, daß Casein wie Paracasein Fällungen mit den Antiseris geben; die Praecipitine des Paracaseinserums werden sowohl durch Casein, als auch durch Paracasein gebunden*), während die des Lactoserums — unter gleichen Versuchsbedingungen — nur vom Casein, aber nicht vom Paracasein gebunden werden.

J. Bauer hat auf dem gleichen Gebiete mit der Complementfixationsmethode gearbeitet. Casein hat (nach Bauer) mit Caseinantiserum eine Reaction in viel stärkeren Verdünnungen als das Paracasein gegeben; mit Paracaseinantiserum dagegen haben Paracasein und Casein die gleiche Reaction gezeigt.

Ich gehe nun zu meinen eigenen Versuchen über. Die Technik der Gewinnung von Paracasein gestaltete sich folgendermaßen: frische pasteurisierte Milch wurde zuerst 2—3 mal centrifugiert und möglichst von Fett befreit. Mittels des Pegnins (von Dungern) wurde die Milch darnach bei Körpertemperatur zur Gerinnung gebracht. Der ausgefällte Käse wurde zuerst abfiltriert und auf dem Filter mit physiologischer Kochsalz-

*) D. h. sind durch verdünnte Essigsäure aus dem Praecipitat nicht mehr herausnehmbar.

lösung fortdauernd 5 Minuten gründlich gewaschen. Nach der Entfernung vom Filter wurde der Kuchen 15–20 Minuten lang in jedesmal erneuter physiologischer Na Cl-Lösung ordentlich geschüttelt, so daß die Flüssigkeit ganz klar aussah. Dann folgte erneute Waschung auf dem Filter. Nachher wurde der so behandelte Käse in einem sterilen Mörser 15—20 Minuten lang verrieben, bis er einen ganz feinen einheitlichen Brei darstellte. Von diesem Brei wurde ein gewisses Quantum in einem Reagenzglas mit entsprechendem – je nach dem gewünschten Verdünnungsgrad – Quantum physiologischer Na Cl-Lösung verrührt und ein paar Minuten fest umgeschüttelt. Am Anfang war die Technik noch so unvollkommen, daß man noch makroskopisch in der Flüssigkeit einzelne mehr oder weniger grobe Partikelchen unterscheiden konnte. Es wurde daher nochmals filtriert und leicht centrifugiert; auf diesem Wege bekam ich ein dickes Sediment am Boden des Reagenzgläschens und oben eine feine milchig getrübte Flüssigkeit, die ganz einheitlich aussah, und in der man makroskopisch keine gröberen Teilchen unterscheiden konnte. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde die Technik so fein, daß das zuletzt beschriebene Filtrieren und Centrifugieren ganz überflüssig wurde.

Die eben beschriebene Gewinnungsmethode des Paracaseins ist von der der Müller'schen durch ihr Nahekommen an die natürlichen Vorgänge im Magendarmkanal ausgezeichnet.

Um ein Paracaseinantiserum, oder wie ich es der Kürze halber im folgenden immer nennen will, ein Paraserum zu gewinnen, habe ich Kaninchen die durch die beschriebene Methode gewonnene Flüssigkeit wiederholt eingespritzt. Lactoserum wurde in der üblichen Weise hergestellt; doch ist es mir während der ganzen Arbeit, trotz vieler Bemühungen, nicht gelungen ein hochwertiges Serum zu bekommen. Das beste Lactoserum*) hat in 1 ccm einer Milchverdünnung 1:160 beim Zusatz von 0,2 ccm (concentr.) einen sicheren Niederschlag gegeben. Zuerst erhielt ich auch nur minderwertige Parasera; zuletzt gewann ich zwei Parasera, welche in einer Paracaseinaufschwemmung 1:160 mit 0,004 ccm noch eine deutliche Fällung hervorzurufen imstande waren.**)

*) Welches zu den zunächst zu schildernden Versuchen verwandt werden konnte. Später gelang es, annähernd doppelt so starke Lactoseren zu gewinnen.

**) Um möglichst gleiche Umstände für einen vergleichenden (Austausch-) Versuch zu schaffen, habe ich die Paraserumtitration nur mit Paracaseinaufschwemmungen 1:160 ausgeführt — Analogie mit dem oben genannten Lactoserum. Ich nahm stets 0,005 ccm. zur Praecipitationsprobe, arbeitete aber auch mit der 10fachen Menge, also 0,05 ccm.

Zunächst war zur Ermöglichung vergleichender Praecipitationsversuche eine genaue Messung geplant; aber die Ausführung erwies sich als unmöglich.

Darauf wurden mit den oben erwähnten Antiseren Austauschversuche angestellt, um eine Differenzierung von Casein und Paracasein durchzuführen.

Die Technik des Praecipitationsversuches war folgende: nach der Herstellung von Verdünnungen (Milch und Paracasein) und nach Zusatz der Antiseren wurde alles für zwei Stunden in den Brutschrank bei 37° gestellt; nach dem Einstellen in den Brutschrank fand eine öftere Schüttelung statt, wie auch bereits vorher. Nachher wurde alles ein paar Stunden in den Eiskasten zur Sedimentierung hineingebracht und zum Schluß bis zu $^1/_4$ Stunde in eine electrische Centrifuge gestellt, um sicher negative oder positive Resultate herauszubekommen.

Tabelle I.

Austauschversuche mit der Präcipitationsmethode.

	Lactoserum				Paraseum				Controllen					Bemerkungen
	Concentriert		in 1 ccm. Gesamtflüssigkeit		Concentriert		in 1 ccm. Gesamtflüssigkeit		Lactoserum	Paraserum	Paracasein A	Paracasein B	Milch	
	ccm		ccm		ccm		ccm							
Milch 1 : 160	0,2	⊖	0,2	⊖	0,05	+ Spur	0,005	⊖	⊖	⊖			Sämtliche Milchcontrollen einwandfrei.	*) Niederschlag, der aber nicht wie spezifisches Präcipitat aussieht.
„ „	0,2	+	0,2	⊖			0,05	⊖	⊖	+ Spur				**) Nach dem Centrifugieren ist das Präcipitat nicht kreisförmig in der Kuppe d. Reagenzglases gelagert.
„ „	0,2	+	0,2	⊖			0,05	⊖	⊖	⊖				†) Viel reichlicheres Präcipitat als in der Controlle.
Paracasein A 1 : 160			0,2	⊖ *)	0,05	+**)	0,005	⊖	„	„	⊖			!++++! Sehr starker Niederschlag, der auch an den Röhrchenwänden sitzt. Im Mikroskop typisch. Bild eines spezifischen Präcipitates.
„ „	0,2	+							„	„	+			
„ „			0,2	+			0,05	+	„	„	+ Sp. Schl.			
„ „	0,2	++	0,2	⊖			0,05	⊖ Spur	„	„	⊖			
Paracasein B 1 : 160			0,2	+++ †)	0,05	+**)	0,005	+++	„	„		+++		
„ „	0,2	+							„	„		+		
„ „			0,2	!++++!			0,05	+++	„	„		+ Schleier		
„ „ in H_2O	0,2	+++	0,2	!++++!			0,05	++	„	„		—		
„ „			0,2	!++++!					„			—		
„ „			0,2	!++++!					„			+ Spur		
in phys. NaCl-Lösg.														
„ „			0,2	!++++!					„			+ Spur		

Um die Tabelle I verständlicher zu machen, muß ich zuerst erklären, was „Paracasein A“ und „Paracasein B“ bedeutet. In der Kuhmilch ist im Durchschnitt 3 Proz. Casein enthalten; in 1 ccm Kuhmilch findet sich also 0,03 gr Casein. In 1 ccm „Paracasein A“ findet sich gleichfalls 0,03 gr Paracasein (oder richtiger: 0,03 gr von dem auf die beschriebene Weise gewonnenen Käse). Das „Paracasein B“ ist nach folgender Ueberlegung hergestellt: bei der oben besprochenen Gewinnungsmethode von Paracasein habe ich immer aus 1 ccm Milch 0,2 gr Paracaseinkuchen gewonnen. Dieselben Zahlenverhältnisse fanden sich jedesmal, so oft Rohsubstanz und der gewonnene Kuchen abgewogen wurden. Es besteht ja das, was wir als „Paracasein“ hier bezeichnen, nicht nur aus dieser chemisch genau definierten Substanz, sondern es finden sich in dem Gerinnsel eingeschlossen noch andere Teile der Milch, insbesondere auch Fett. Es schien deshalb richtig bei Vergleichsversuchen 1 ccm reiner Kuhmilch außer dem „Paracasein A“ auch eine Aufschwemmung von 0,2 gr des Käses (im Einklang mit den beschriebenen Wägungen) als „Paracasein B“ gegenüberzustellen. Dieses Paracasein B enthält demnach genau die gleiche Substanz wie Paracasein A, aber in wesentlich stärkerer Concentration.

Aus der vorliegenden Tabelle ist zu sehen, daß die Versuche nicht immer ganz eindeutig ausgefallen sind wegen leichter Niederschläge in den Controllen.

Die Austauschversuche ergeben, daß das Lactoserum viel stärkere Niederschlagsbildungen auslöst als das Paraserum nicht nur gegenüber der Milchverdünnung, sondern auch gegenüber den Verdünnungen der beiden Paracaseine.

Besonders auffallend ist die Reaction des Paracaseins B mit Lactoserum und namentlich mit verdünntem Lactoserum. Die Reaction war so auffallend und so constant, daß ich nicht umhin kann, sie in wenigen Worten zu beschreiben. Das Paracosein B in Aufschwemmungen 1:160 — sei es, daß die Verdünnungen mittels aqua destill. hergestellt waren, oder mittels physiologischer Na Cl-Lösung — gab eine sehr deutliche, starke Reaction mit Paraserum. Zusammengebracht mit concentriertem Lactoserum gab es ungefähr eine Reaction derselben Stärke; mit demselben Quantum Lactoserum — aber verdünnt in 1 ccm physiolog. Na Cl-Lösung — gab es schon gleich nach dem Herausnehmen aus dem Brutschrank, also vor dem Centrifugieren ein ungewöhnlich aussehendes starkes Praecipitat, das nicht nur die Kuppe des Röhrchens ausfüllte, sondern auch an den Röhrchenwänden sich flockig niederschlug. Nach dem Centrifugieren

blieb das Praecipitat unverändert, auch hier noch an den Wänden anhaftend. Das mehrmalige Mikroskopieren (einfach und gefärbt) zeigte stets echtes Praecipitat.

Versuche mit der Complementbindungsmethode.

Wie oben schon erwähnt war, wurden noch weitere Versuche angestellt, um eine Differenzierung des Caseins und des Paracaseins zu erzielen und zwar mittelst der Complementfixationsmethode.

Ich bespreche zunächst die Technik der Reaction: ein haemolytisches System besteht aus 3 Elementen: einem inactivierten haemolytischen Serum (Immunkörper oder Amboceptor nach der Ehrlich'schen Terminologie), einer Aufschwemmung von roten Blutkörperchen (den gleichen, die auch zur Herstellung des haemolytischen Serums gedient haben) und einem Complement (Alexin) — aus dem frisch vor der Einstellung des Versuches gewonnenem Meerschweinchenserum. Das haemolytische Serum wurde von Tieren (Kaninchen) auf dem gewöhnlichen Wege der Immunisierung mit gut gewaschenen roten Blutkörperchen gewonnen. Ich habe ein Hammelerythrocytenlösendes Serum hergestellt dadurch, daß ich gut gewaschene Hammelerythrocyten einem Kaninchen 2—3 mal injiciert habe. Der haemolytische Amboceptor wurde vor der Verwendung für Ablenkungsversuche $^1/_2$ Stunde auf 56° im Wasserbad erwärmt und auf diese Weise inactiviert.

Der eigentliche Complementablenkungsversuch besteht aus zwei Systemen. Das erste System enthält Antigen und Antikörper samt Alexin (Complement), das zweite ist das haemolytische. Bekanntlich findet beim Zusammenbringen von Antigen und Antikörper eine gewisse Bindung statt, in welche auch das Complement (Alexin) hineingezogen wird; vervollständigt man darnach das haemolytische System, so bleibt die sonst unfehlbar eintretende Haemolyse aus. Es kann auch vorkommen, daß beim Zusammenbringen von Antigen-Antikörper und Complement (Alexin) und nach Zusatz des Restes des haemolytischen Systems (Erythrocyten und haem. Amboceptor) keine vollständige Bindung (resp. Ablenkung) des Complements und daher eine schwache, oder stärkere Haemolyse stattfindet. Dabei wird die lebhaft rot gefärbte, klare Flüssigkeit der completten Haemolyse mehr weniger an ihrer Farb-Intensität abnehmen und kann so verschiedene Stufen der Ablenkung aufweisen. Diese Stufen sind leicht zu unterscheiden, da die Farbenskala für einen geübten Beobachter unschwer abzuschätzen ist. Beim Fehlen von jeder Spur von Lyse ist die Flüssigkeit klar und farblos und die ungelösten Blutkörperchen

sind am Boden abgesetzt; bei completter Haemolyse sind alle Blutkörperchen aufgelöst und daher ist die Flüssigkeit lebhaft rot gefärbt. Ich habe im folgenden 12 Stufen unterschieden:

1. Keine Lyse (-o- Lyse)
2. Geringste Spur von Lyse.
3. Schwache „ „ „
4. Spur von Lyse.
5. Sehr schwache Lyse
6. Schwache Lyse.
7. Mässige „
8. Mässige bis starke Lyse.
9. Starke Lyse.
10. Sehr starke Lyse.
11. Fast complette Lyse.
12. Complette Lyse.

In meinen Ablenkungsversuchen mit Paracasein*) habe ich nach dem Vorgang Uffenheimers vor der endgültigen Ablesung der Resultate sämtliche Röhrcheninhalte centrifugiert; das erleichtert sehr die Wertung des Resultates und kann auch vollständig das Stehen im Eiskasten ersetzen.

Um einen Complementablenkungsversuch zu vervollständigen und verwertbar zu machen, ist es unbedingt notwendig, sehr zahlreiche Controllen anzustellen (darüber näheres bei Besprechung der nachstehenden Tabellen). Dann ist es notwendig, vor jedem Versuche eine neue Titrierung des haemolytischen Amboceptors vorzunehmen, da der Titer auch bei sorgfältiger Aufbewahrung in zugeschmolzenen Serumgläschen und im Eiskasten immer zurückgeht. Dann habe ich stets für den Ablenkungsversuch je zwei Einheiten vom haemolytischen Amboceptor (das heißt das zweifache der kleinsten komplette Haemolyse auslösenden Dosis) und vom Complement die Dosis 0,1 — eine Dosis, die sicher ausreicht, um eine complette Lyse zu veranlassen — genommen.

Da die Technik der Complementbindungsmethode kurz besprochen ist, so werde ich jetzt zur Besprechung meiner Ablenkungsversuche übergehen.

In den vorliegenden Versuchen war zu erforschen, welche Reaction im Sinne der Ablenkung die verschiedenen Gattungen von Casein, Paracasein A und Paracasein B mit Lactoserum und Paracaseinantiserum geben, und zwar wurden einander gegenüber gestellt:

Casein **) und Lactoserum — Paracasein A und Paraserum
Casein **) und Paraserum — Paracasein A und Lactoserum
Paracasein B und Paraserum
Paracasein B und Lactoserum.

Es wurden insgesamt 3 große Versuchsreihen (3 Tabellen) angestellt, von denen die erste (Tab. II) ganz frühzeitig, die anderen zwei (Tab. III u. IV) später vorgenommen wurden. Daher sind auch nicht gleich starke Antisera verwendet worden.

*) Um für den ganzen Complementablenkungsversuch, der auch Versuchsreihen mit Milchverdünnungen enthält, gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden auch die Milchverdünnungen enthaltenden Röhrchen centrifugiert.

**) Richtiger: Milch.

Tabelle II.

Complement-Ablenkung.

Casein — Lactoserum.

Laufende Nr.	Milchverdünnungen 0,5 ccm	Lactoserum 1:100	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1500	Resultate
1	1:10	0,1ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	⊕ Lyse
2	1:20	„	„	„	„	⊕ „
3	1:40	„	„	„	„	⊕ „
4	1:60	„	„	„	„	schwache Lyse
5	1:80	„	„	„	„	„ „
6	1:100	„	„	„	„	„ „

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Paracasein B — Paraserum.

Laufende Nr.	Paracaseinverdünnungen 0,5 ccm	Paraserum 1:40	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1500	Resultate
1	1:10	0,1ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	schwache Lyse
2	1:20	„	„	„	„	mäßige Lyse
3	1:40	„	„	„	„	mäßig bis starke Lyse
4	1:60	„	„	„	„	starke Lyse
5	1:80	„	„	„	„	complette Lyse
6	1:100	„	„	„	„	complette Lyse

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Casein — Paraserum

Laufende Nr.	Milchverdünnungen 0,5 ccm	Paraserum 1:40	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1500	Resultate
1	1:10	0,1ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	⊖ Lyse
2	1:20	„	„	„	„	sehr schwache Lyse
3	1:40	„	„	„	„	mäßige Lyse
4	1:60	„	„	„	„	mäßig bis starke Lyse
5	1:80	„	„	„	„	starke Lyse
6	1:100	„	„	„	„	sehr starke Lyse

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Paracasein B — Lactoserum

Laufende Nr.	Paracaseinverdünnungen 0,5 ccm	Lactoserum 1:100	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1500	Resultate
1	1:10	0,1ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	schwache Lyse
2	1:20	„	„	„	„	„ „
3	1:40	„	„	„	„	„ „
4	1:60	„	„	„	„	mäßig bis starke Lyse
5	1:80	„	„	„	„	„ „ „ „
6	1:100	„	„	„	„	„ „ „ „

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Controllen:

C_1: Häm. Syst. + Milch (1:10) = Comp. Lyse.

C_2: Häm. Syst. + Paracasein B (1:10) = Comp. Lyse.

C_3: Amboceptor (1:3000) + Compl. + Rot. Blutkörp. (in ein. 5% Aufschwg.) = Comp. Lyse.

C_4: Häm. Syst. + Paraserum (0,1 ccm) = Comp. Lyse.

C_5: Häm. Syst. + Lactoserum (0,1 ccm) = Comp. Lyse.

C_6: Häm. Syst. — Compl. + Paraserum (0,1 ccm) = ⊖ Lyse.

C_7: Häm. Syst. — Compl. + Lactoserum (0,1 ccm) = ⊖ Lyse.

Tabelle III.

Complement-Ablenkung.

Casein-Lactoserum

Laufende Nr.	Milch-Verdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1 : 160	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1:10	0,2ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	← Lyse
2	1:40	„	„	„	„	schwache Lyse
3	1:60	„	„	„	„	mäßige Lyse
4	1:80	„	„	„	„	mäßige Lyse
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse
6	1:120	„	„	„	„	starke Lyse
7	1:160	„	„	„	„	starke Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Casein-Paraserum

Laufende Nr.	Milch-Verdünnugen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesamtflüssigkeit	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1:10	0,005 ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	schwache Lyse
2	1:40	„	„	„	„	starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	starke Lyse
4	1:80	„	„	„	„	starke Lyse
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse
6	1:120	„	„	„	„	starke Lyse
7	1:160	„	„	„	„	fast complette Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Paracasein A - Paraserum

Laufende Nr.	Paracasein A-Verdünnungen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesamtflüssigkeit	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1:10	0,005 ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	mäß. b. starke Lyse
2	1:40	„	„	„	„	starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	starke Lyse
4	1:80	„	„	„	„	starke Lyse
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse
6	1:120	„	„	„	„	fast complette Lyse
7	1:160	„	„	„	„	fast complette Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Paracasein A - Lactoserum

Laufende Nr.	Paracasein A-Verdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1 : 160	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1:10	0,2ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	mäßige Lyse
2	1:40	„	„	„	„	mäßige b. starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	starke Lyse
4	1:80	„	„	„	„	fast complette Lyse
5	1:100	„	„	„	„	fast complette Lyse
6	1:120	„	„	„	„	fast complette Lyse
7	1;160	„	„	„	„	fast complette Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Fortsetzung siehe nächste Seite.

Tabelle III (Fortsetzung).

Paracasein B - Paraserum

Laufende Nr.	Paracasein B-Verdünnungen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesamtflüssigkeit	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1:10	0,005 ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	mäßige Lyse
2	1:40	„	„	„	„	starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	fast complette Lyse
4	1:80	„	„	„	„	fast complette Lyse
5	1:100	„	„	„	„	fast complette Lyse
6	1;120	„	„	„	„	fast complette Lyse
7	1:160	„	„	„	„	fast complette Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Paracasein B - Lactoserum

Laufende Nr.	Paracasein B-Verdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1 : 160	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1 : 1000	Resultate
1	1;10	0,2ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	— (zerbrochen)
2	1;40	„	„	„	„	schwache Lyse
3	1;60	„	„	„	„	schwache Lyse
4	1:80	„	„	„	„	schwache Lyse
5	1;100	„	„	„	„	mäßige Lyse
6	1;120	„	„	„	„	mäßige Lyse
7	1;160	„	„	„	„	mäßige b. starke Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Controllen:
(zu Tabelle III)

C_1: Häm. Syst. + Milch (1 : 10) = starke Lyse.
C_2: Häm. Syst. + Paracasein A (1 : 10) = fast comp. Lyke. } !!!
C_3: Häm. Syst. + Paracasein B (1 : 10) = fast comp. Lyse. }
C_4: Häm. Syst. + Lactoserum (0,2 ccm) = compl. Lyse.
C_5: Häm. Syst. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm) = compl. Lyse.
C_6: Häm. Syst. — Amb. + Milch (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_7: Häm. Syst. — Amb. + Paracasein A (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_8: Häm. Syst. — Amb. + Paracasein B (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_9: Häm. Syst. — Amb. + Lactoserum (0,2 ccm) = mässige bis starke Lyse (!)
C_{10}: Häm. Syst. — Amb. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{11}: Häm. Syst. — Compl. + Milch (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{12}: Häm. Syst. — Compl. + Paracasein A (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{13}: Häm. Syst. — Compl. + Paracasein B (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{14}: Häm. Syst. — Compl. + Lactoserum (0,2 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{15}: Häm. Syst. — Compl. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{16}: Amb. (1 : 2000) + Compl. + Rot. Blutk. (in einer 5% Aufschwemmung) = complette Lyse.

Tabelle IV.

Complement-Ablenkung.

Casein — Lactoserum.

Laufende Nr.	Milchverdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1:320	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,15ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	± Lyse
2	1:40	„	„	„	„	Geringste Spur von Lyse.
3	1:60	„	„	„	„	Schwache Spur v. Lyse.
4	1:80	„	„	„	„	Spur von Lyse.
5	1:100	„	„	„	„	schwache Lyse.
6	1:120	„	„	„	„	schwache Lyse.
7	1:160	„	„	„	„	schwache bis mäßige Lyse.

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Casein — Paraserum.

Laufende Nr.	Milchverdünnungen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesammtflüssigkeit	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,005ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	— (zerbrochen.)
2	1:40	„	„	„	„	mäßige Lyse.
3	1:60	„	„	„	„	starke Lyse.
4	1:80	„	„	„	„	starke Lyse.
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse.
6	1:120	„	„	„	„	starke Lyse.
7	1:160	„	„	„	„	starke Lyse.

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Paracasein A — Paraserum.

Laufende Nr.	Paracasein A-Verdünnungen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesammtflüssigkeit	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,005ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	mässige bis starke Lyse
2	1:40	„	„	„	„	mässige bis starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	mässige bis starke Lyse
4	1:80	„	„	„	„	mässige bis starke Lyse
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse.
6	1:120	„	„	„	„	starke Lyse.
7	1:160	„	„	„	„	fast complette Lyse.

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

Paracasein A — Lactoserum.

Laufende Nr.	Paracasein A-Verdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1:320	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,15ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	schwache Spur von Lyse
2	1:40	„	„	„	„	sehr schwache Lyse
3	1:60	„	„	„	„	sehr schwache Lyse
4	1:80	„	„	„	„	sehr schwache Lyse
5	1:100	„	„	„	„	schwache Lyse
6	1:120	„	„	„	„	schwache Lyse
7	1:160	„	„	„	„	schwache bis mäßige Lyse

2 Stunden im Brutofen.

2 Stunden im Brutofen.

(Fortsetzung siehe nächste Seite.)

Tabelle IV (Fortsetzung).

Paracasein B — Paraserum.

Laufende Nr.	Paracasein B-Verdünnungen 1 ccm	Paraserum concent. in 1 ccm Gesammtflüssigk.	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,005 ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	mäßige Lyse
2	1:40	„	„	„	„	mäß. b. starke Lyse
3	1:60	„	„	„	„	mäß. b. starke Lyse
4	1:80	„	„	„	„	starke Lyse
5	1:100	„	„	„	„	starke Lyse
6	1:120	„	„	„	„	starke Lyse
7	1:160	„	„	„	„	starke Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Paracasein B — Lactoserum.

Laufende Nr.	Paracasein B-Verdünnungen 1 ccm	Lactoserum 1:320	Complement Meerschw.-Serum	Rote Blutkörperch. in einer 5% Aufschwemmung	Hämolysin 1:1000	Resultate
1	1:10	0,15 ccm	0,1ccm	1,0ccm	1,0ccm	Geringste Spur von Lyse
2	1:40	„	„	„	„	schwache Spur von Lyse
3	1:60	„	„	„	„	schwache Spur von Lyse
4	1:80	„	„	„	„	schwache Spur von Lyse
5	1:100	„	„	„	„	Spur von Lyse
6	1:120	„	„	„	„	sehr schwache Lyse
7	1:160	„	„	„	„	sehr schwache Lyse

2 Stunden im Brutofen

2 Stunden im Brutofen

Controllen:
(zu Tabelle IV)

C_1: Häm. Syst. + Milch (1 : 10) = starke Lyse.
C_2: Häm. Syst. + Paracasein A (1 : 10) = starke Lyse. } !!!
C_3: Häm. Syst. + Paracasein B (1 : 10) = starke Lyse. }
C_4: Häm. Syst. + Lactorerum (0,15 ccm) = Compl. Lyse.
C_5: Häm. Syst. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm.) = Comp. Lyse.
C_6: Häm. Syst. — Amb. + Milch (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_7: Häm. Syst. — Amb. + Paracasein A (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_8: Häm. Syst. — Amb. + Paracasein B (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_9: Häm. Syst. — Amb. + Lactoserum (0,15 ccm) = mässig bis starke Lyse. (!)
C_{10}: Häm. Syst. — Amb. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{11}: Häm. Syst. — Compl. + Milch (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{12}: Häm. Syst. — Compl. + Paracasein A (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{13}: Häm. Syst. — Compl. + Paracasein B (1 : 10) = ⊖ Lyse.
C_{14}: Häm. Syst. — Compl. + Lactoserum (0,15 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{15}: Häm. Syst. — Compl. + Paraserum (0,005 ccm conc. in 1 ccm) = ⊖ Lyse.
C_{16}: Amboceptor (1 : 2000) + Complement + Rot. Blutkörperchen (in einer 5% Aufschwg.) = complette Lyse.

Bei Anstellung der ersten Versuchsreihe (Tab. II) habe ich nur schwache Antisera gehabt — Lactoserum 1:100, Paraserum 1:40 — und mit Paracasein B gearbeitet. Die Milch- und Paracasein B-Verdünnungen wurden in folgenden Concentrationen mit den Antiseren geprüft: 1:10, 1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100.

Bei der zweiten und dritten Versuchsreihe (Tab. III u. IV) wurden etwas höherwertige Antisera gebraucht, welche, wie schon oben besprochen war, vergleichend aufeinander eingestellt waren.*) Hier wurden Versuche mit den beiden Paracaseinarten dem Paracasein A und B angestellt. Die Milch- und Paracasein-Verdünnungen wurden in folgenden Concentrationen geprüft: 1:10, 1:40, 1:60, 1:80 1:100 1:120 1:160.

Dabei hat sich herausgestellt, daß das Lactoserum mit einer Milchverdünnung 1:10 eine vollständige Ablenkung gab, das heißt, daß schon während des Vorversuches das Complement fest an das System Antigen-Antikörper (Milch-Lactoserum) fixiert wird und daher beim Zusatz von haemolyt. Amboceptor und roten Blutkörperchen keine Lyse stattfinden konnte. Das ist zu sehen an allen 3 Tabellen unter der Rubrik „Casein—Lactoserum."

Das Casein (Milchverdünnungen) und Paraserum sind nicht so gut aufeinander eingestellt (Tab. III u. IV). Nur in einem Versuch (Tab. II) bei stärkster Concentration (1:10) war eine völlige Ablenkung zu sehen, bei den beiden anderen (Rubrik „Casein-Paraserum", Tab. III u. IV) ist nur geringere Ablenkung zu constatieren.

Das Paracasein und Paraserum sind nicht so gut aufeinander eingestellt, sogar wie Casein und Paraserum (Tab. II). Auch aus den Tab. III und IV ergibt sich gleichfalls, daß das Paracasein (beide Paracaseinarten) und Paraserum nicht so gut aufeinander eingestellt sind wie Casein und Lactoserum oder sogar wie Casein und Paraserum (Tab. III u. IV).

Paracasein und Lactoserum scheinen etwas besser aufeinander zu reagieren als Paracasein und Paraserum (Tab. II). Das gleiche ergibt sich bei Versuchen mit beiden Paracaseinen (Tab. III u. IV). Es ist noch zu bemerken, daß das Paracasein A stets (gegenüber dem Paraserum wie auch dem Lactoserum) geringere Ablenkung als Paracasein B zeigt.

---

*) D. h. war ein Lactoserum vom Titre 1:160 vorhanden, so wurde die Menge des gleichzeitig zu verwendenden Paraserums bestimmt, die mit Paracasein 1:160 noch deutliche Praecipitation gab.

Dabei spielen jedenfalls die quantitativen Verhältnisse zwischen Paracasein A und Paracasein B eine entscheidende Rolle.*)

Ein paar Worte über die Zahl und Anordnung der Controllen. Es waren vier Tatsachen dabei festzustellen: 1. ob das haemolytische System im ganzen durch Zusatz von einzelnen Elementen, die am Versuch teilnehmen (z. B. Milch, Paracasein A und B, Lacto- oder Paraserum) irgendwie beeinträchtigt wird, d. h. ob irgend eine Hemmung der Haemolyse stattfindet; 2. ob irgend eines der Elemente an und für sich haemolysierend wirkt (diese zweite Gruppe der Controllen ist nach demselben Schema wie Gruppe 1 angestellt, nur ist das haemolytische System ohne Amboceptor genommen worden); 3. ob irgend eines der im Versuch teilnehmenden Elemente die Complementwirkung auszuüben imstande ist (dasselbe Schema wie bei 1 und 2, nur wird das haemolytische System ohne Complement genommen); als 4. kam noch die Controlle des haemolytischen Systems allein hinzu. Was die erste Controllgruppe anbetrifft, so hat sich dabei folgendes herausgestellt: in Tab. II ist eine complette Lyse bei Anwesenheit von Milch und Paracasein eingetreten. In den Tab. III und IV ist aber nur eine starke oder fast complette Lyse eingetreten — die Milch, wie auch Paracasein A und B haben also an und für sich wenig, oder sogar minimal ablenkend gewirkt (in stärksten Concentrationen). Es wurden, um diese Hemmung zu erklären, unter strengster Erhaltung der Sterilität diese Controllen wiederholt angestellt und es wurden stets dieselben Resultate erzielt. Bei Anwesenheit von Lacto- oder Paraserum sind die Controllen in allen 3 Tabellen eindeutig ausgefallen und weisen keine Wirkung im Sinne der Hemmung der Haemolyse auf.

Was die zweite Controllgruppe anbelangt (Fehlen des Amboceptors vom haemolytischen System), so hat sich ergeben, daß das Lactoserum (Tab. III u. IV) in beiden Fällen etwas haemolysierend wirkte (mäßige bis starke Lyse). Um auch dieses Phänomen kennen zu lernen, waren mehrmals solche Controllversuche angestellt worden und stets ergaben sich die gleichen Resultate. Was die anderen Controllen dieser Gruppe anbetrifft, so waren sie alle einwandfrei, das heißt, sie haben stets keine Haemolyse gezeigt.

In der dritten Controllgruppe (Fehlen des Complementes aus dem haemolytischen System) sind die Resultate tadellos — nirgends ist eine Haemolyse eingetreten. Ebenso erwies sich die Controlle des haemolyt. Systems allein als gut.

*) In 1 ccm. Paracaseinaufschwemmung A befindet sich (wie schon bemerkt) 0,03 gr und in 1 ccm Paracaseinaufschwemmung B 0,2 gr des durch Labfällung gewonnenen Käses.

Die oben angeführten Fehler in den Controllen sind von solcher Natur, daß sie bei kritischem Abwägen keine Aenderungen in der Wertung der Versuche erfordern und deren Klarheit nicht verwischen.

Um die Resultate der 3 Complementbindungsreihen übersichtlicher zu machen, sind die verschiedenen Antigen-Antikörper-Relationen jeder Reihe nach dem Grade ihrer Aufeinandereinstellung im folgenden notiert:

1. Versuchsreihe-Tabelle II.

A. Casein-Lactoserum (Nr. 1—3 keine Lyse).
B. Casein-Paraserum (Nr. 1 keine Lyse; Nr. 2 sehr schwache Lyse).
C. Paracasein-Lactoserum (Nr. 1—3 schwache Lyse).
D. Paracasein-Paraserum (Nr. 1 schwache Lyse; Nr. 2 mäßige Lyse; Nr. 3 mäßige bis starke Lyse).

2. Versuchsreihe-Tabelle III.

A. Casein-Lactoserum (Nr. 1 keine Lyse).
B. Casein-Paraserum (Nr. 1 schwache Lyse).
C. Paracasein B-Lactoserum (Nr. 1 zerbrochen; Nr. 2—4 schwache Lyse).
D. Paracasein A-Lactoserum (Nr. 1 mäßige Lyse, Nr. 2 mäßige bis starke Lyse).
E. Paracasein B-Paraserum (Nr. 1 mäßige Lyse; Nr. 2 starke Lyse).
F. Paracasein A-Paraserum (Nr. 1 mäßige bis starke Lyse; Nr. 2 starke Lyse).

3. Versuchsreihe-Tabelle IV.

A. Casein-Lactoserum (Nr. 1 keine Lyse; Nr. 2 geringste Spur von Lyse).
B. Paracasein B-Lactoserum (Nr. 1 geringste Spur Lyse; Nr. 2 schwache Spur Lyse).
C. Paracasein A-Lactoserum (Nr. 1 schwache Spur Lyse; Nr. 2 sehr schwache Lyse).
D. Casein-Paraserum (Nr. 1 zerbrochen (?); Nr. 2 mäßige Lyse).
E. Paracasein B-Paraserum (Nr. 1 mäßige Lyse; Nr. 2 mäßige bis starke Lyse).
F. Paracasein A-Paraserum (Nr. 1 mäßige bis starke Lyse).

Aus diesen Befunden lassen sich folgende allgemeine Schlüsse ziehen: zuerst, daß das Casein als Antigen sehr starke

Reaktion nicht nur mit seinem Antikörper (Lactoserum) gibt, sondern auch mit dem Antikörper (Paraserum) des ihm verwandten Paracaseins und was das auffälligste ist — wesentlich stärker als das Paracasein selbst (als Paracasein A und B).

Ebenso ist zu sehen, daß die Paracaseine A und B mit ihrem eigenen Antikörper — dem Paraserum viel schwächer reagieren, als mit demjenigen des Caseins — dem Lactoserum.

Wenn wir diese Schlüsse mit denen, die wir aus den Praecipitationsversuchen ableiteten, vergleichen, so können wir constatieren, daß die Complementbindungsmethode die Ergebnisse der Praecipitationsmethode vollständig bestätigt hat.

Versuche mit der anaphylactischen Methode.

Auf dem Gebiete der biologischen Milchforschung ist vielfach mit der anaphylactischen Methode gearbeitet worden.

Das Phänomen der Anaphylaxie (Richet) besteht in einer gewissen Ueberempfindlichkeit (Schutzlosigkeit) des Organismus gegen eine zweite parenterale Einführung von artfremden Eiweiß (überhaupt eines Antigens), die nach einem gewissen Zeitintervall (Incubationszeit) nach der Erstinjection (auch parenteral) eingetreten ist. Diese Schutzlosigkeit bei der Reinjection — mit demselben artfremden Eiweiß, das zur Sensibilisierung gedient hat — äußert sich durch einen Symptomencomplex von Krankheitserscheinungen, die zum Tode des Versuchstieres führen können, der unter dem Namen „anaphylactischer Shock" bekannt ist.

Der Vorgang der Anaphylaxie soll sich folgendermaßen abspielen: ein Antigen, auch Sensibilisinogen, oder Anaphylactogen genannt, bildet im Organismus innerhalb einer bestimmten Incubationszeit einen Antikörper, Anaphylactin, oder Sensibilisin genannt; bei der Reinjection erfolgt eine Bindung des Antigens mit im Blute vorhandenem Antikörper (Sensibilisin) und auch mit dem Complement des Blutes zu einer neuen Substanz—Anaphylatoxin genannt. Erst dieses ruft den oben erwähnten Symptomencomplex — den anaphylactischen Shock — hervor.

Friedberger (20, 21) und Doerr (22, 3, 4) wollen hier keinen neuen Stoff sehen, sondern identificieren das Sensibilisin mit dem Praecipitin und dem complementbindenden Antikörper; es soll die altbekannte Eiweiß-Antieiweiß-Reaction sein, aber nur in vivo.

Die Reaction braucht nicht immer tötlich zu verlaufen und daher unterscheidet man verschiedene Stufen des anaphylactischen Shocks. Verschiedene Autoren, die mit dieser Methode gearbeitet haben, geben stets eine Scala der Symptome an, die sie für leicht oder schwer usw. halten.

In meinen Tabellen sind alle Symptome unter der Rubrik „klinisches Ergebnis am Meerschweinchen" und die Wertung des Resultates des Versuches unter einer besonderen Rubrik angegeben.

Hermann Pfeiffer (25, 6, 7) hat zuerst die Möglichkeit gezeigt, einen anaphylactischen Shock durch die Größe des Temperatursturzes quantitativ zu messen, und später unter Mitarbeit mit Mita (28, 9) auch bestimmte Formeln aufgestellt: „Shockgröße (Se) ist gleich dem halben Product aus der Größe der Temperaturabnahme (TA) und der Zeitdauer der anaphylactischen Erkrankung (Z)".

$$Se = \frac{TA.Z}{2}$$

Dabei nimmt man als Einheit für TA 0,1° C. und für Z 1'; dadurch wird das Arbeiten mit Dezimalen vermieden. So ist z. B. die Shockgröße bei einem Tier, das einen Temperatursturz von 2,5° C. hatte und sich erst nach 2 Stunden (= 120 Minuten) erholt hat gleich 1500, nach der Formel:

$$Se = \frac{25.120}{2} = 1500;$$

Wo es möglich war, sind diese Shockgrößenmessungen berechnet und in den Tabellen angeführt.

Als geeignetes Versuchstier ist von allen Autoren das Meerschweinchen anerkannt. Die Ersteinbringung kann subcutan (Doerr und Ruß, Kleinschmidt, Bachrach u. a. m.), intravenös (Uffenheimer u. a.), intraperitoneal (Besredka u. a.) also parenteral, aber auch enteral (Kleinschmidt u. a.) geschehen. Nach Ablauf eines gewissen Zeitintervalls (Incubationszeit), die für jede Sensibilisierungsmethodik experimentell gefunden werden muß und die auch von den Dosen abhängig ist, wird die Reinjection gewöhnlich intravenös (Doerr und Ruß, Bachrach, Uffenheimer u. a.) vorgenommen, sie kann aber auch intracerebral (Besredka) oder intracardial (Kleinschmidt) gemacht werden.

Die vorliegenden anaphylactischen Versuche waren angestellt, um zu erforschen, ob mittelst dieser Methode eine Differenzierung von Casein (sei es in der Kuhmilch enthalten oder chemisch rein) und Paracasein möglich ist.

Zuerst waren die Sensibilisierungsdosen ähnlich denjenigen, die Uffenheimer-Takeno in ihrem „Experimentum crucis“ (l. c. S. 55, Tab. IV) angegeben haben. Dabei waren aber die Intervalle zwischen 1. und 2. Injection verschieden lang in den einzelnen Versuchen. Nachher wurde der Versuch genau nach Doerr und Ruß (l. c.) oder nach Kleinschmidt (30) durchgeführt, d. h. der Eiweißgehalt der Injectionsdosen war so berechnet, daß er denjenigen der oben angeführten Autoren glich; auch der Intervall entsprach dem von diesen Autoren angegebenem.

Ueber die Sensibilisierungsdosen nach Kleinschmidt ist folgendes zu bemerken: Kleinschmidt hat zur Sensibilisierung mit chemisch reinem Casein 1 ccm einer 1 % Lösung genommen, d. h. 0,01 gr. chem. rein. Casein. Entsprechende Dosen fanden sich auch in den zu den Vergleichsversuchen herangezogenen Milch- und Paracasein-Verdünnungen, resp. Aufschwemmungen.

Die Dosen nach Doerr-Ruß sind folgendermaßen berechnet worden. Die Autoren haben stets zur subcutanen Sensibilisierung 0,01 ccm Rinderserum genommen, sodaß jede Sensibilisierungsdosis 0,0008 oder rund 0,001 gr Eiweiß enthält. Da 100 ccm Kuhmilch 3 gr Eiweiß enthalten, so wird $^1/_{30}$ ccm Milch auch die nötige Eiweißmenge (0,001) enthalten. Zur Sensibilisierung wurden also 3 ccm einer 1 % Milchverdünnung genommen. Die Injection wurde neben dem Proz. Xyphoideus subcutan ausgeführt. Vom Casein und Paracasein wurden entsprechende Mengen verwandt.

Ueber die Einzelheiten wird bei der Besprechung der Tabellen und bei Schilderung der ganzen Versuchsreihe, die nach einer oder nach der anderen Methode angestellt wurden, gesprochen.

Tabelle V. Sensibilisierung mit Paracasein, intravenös.

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Reinjektion mit	Intervalle in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen.	Temperatur vor der zweiten Einspritzung.	Temperatur ½ St. nach der zweiten Einspritzung.	Wertung des Resultats (in Bezug auf Anaphylaxie)	Bemerkungen
1	Paracasein 1 : 3 2 ccm	0,2 gr. Paracas. in 3 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	21	420	2	Keine klinischen Erscheinungen.	37,3	38,0	Negativ	
2	„	5 ccm Milch 1 : 5	35	470	4	Zuckungen; legt sich auf die Seite. Parese der hinteren Extremitäten.	38,6	35,2	Posttiv	
3	„	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	35	410	5	Starke Zuckungen schon während der Injektion. In wenigen Sekunden tot.	38,7	†	Positiv	Obduction: Lungen stark gebläht. Herz schlägt.
4	„	5 ccm Milch 1 : 5	36	450	6	Sehr schwere Krankheitserscheinungen. Erholt sich nur langsam.	39,0	34,6	Positiv	In 8 Stunden ursprüngliche Temperatur. Shockgrösse nach H. Pfeiffer. Se = 10560.
5	„	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	36	440	7	Während der Injektion starke Zuckungen. Am Schlusse derselben tot.	38,4	†	Fraglich (siehe Kontrolle)	Obduction: Lungen mässig gebläht, blass. Herz dilatiert.
6	— Kontrolle zu Protokoll Nr. 6,7.	„	—	390	25	Zuckungen schon während der Injektion. In wenigen Sekuneen tot.	39,0	†	—	Obduction; Spur von Lungenblähung, Herz stark dilatiert.
7	— Kontr. zu Protokoll Nr. 4,5.	„	—	430	24	Keine Krankheitserscheinungen.	38,4	38,6	—	

8	0,025 gr. Paracasein in 0,5 ccm n./10 Na O H-Lösung und in 2,475 ccm aqua dest.	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	59	285	18	Starke Zuckungen. In 1 Minute tritt der Tod ein.	38,7	†	? (negativ)	Obduction: Nebennieren und Milz vergrössert. Herz schlägt; die rechte Seite von der mässig geblähten Lunge bedeckt; links ist keine deutliche Blähung zu konstantieren.
9	0,05 gr. Paracasein in 1 ccm n./10 Na O H-Lösung und in 2,45 ccm aqua dest.	5 ccm Milch 1 : 5	60	355	19	Keine deutlichen Erscheinungen. Das Tier ist etwas lebhafter, leicht schreckhaft.	38,8	40,0	Vielleicht schwach positiv	
10	„	0,2 gr. Paracasein in 4.8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	60	350	20	Vom Operationstisch scheintot heruntergenommen. In ein paar Minuten tot.	38,6	†	? (negativ)	Obduction: Mässige Lungenblähung; Herz schlägt.
11	0,1 gr. Paracasein in 2 ccm n./10 Na O H - Lösung und in 2,4 ccm aq. dest.	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiologischer NaCl-Lösung.	63	370	22	Starke Zuckungen schon während der Injektion. In 2 Minuten ist das Tier tot.	38,4	†	Vermutlich positiv	Obduction: Geblähte Lunge; schlagendes Herz.
12	— Kontrolle zu Protokoll Nr. 22.	„	-	370	22a	Leichte Krankheitserscheinungen.	38,8	35,3	—	In 3^{50} Stunden hat das Tier die ursprüngliche Temperatur wieder. Shockgröße nach H. Pfeiffer: 4025.
13	1 ccm einer 1 % Paracaseinaufschwemmung. Nach Kleinschmidt.	0,4 ccm Casein-Lösung (0,03 gr. Casein in 1 ccm n./10 Na O H.)	21	340	64	Starke Dyspnoë. Ueberhaupt ist das Tier schwer krank.	39,1	38,3	Positiv	
14	„	0,4 ccm Paracasein-Lösung A.	21	380	65	Keine Krankheitserscheinungen.	39,0	38,9	Negativ	

Tabelle V (siehe S. 34 und 35).

Hier liegen 11 Versuche und 3 Controllen vor.

Die Sensibilisierung ist intravenös mit Paracasein ausgeführt. Intervalle verschieden (zwischen 21 und 63 Tagen). Reinjection mit Milch, Paracasein und Casein.

Im Anfang sind die Paracaseinlösungen vielfach mangelhaft hergestellt worden; darüber war schon bei Besprechung der Gewinnungtechnik von Paracasein die Rede gewesen. Die Verreibung war nicht genügend fein, sodaß manchmal gleich nach der Sensibilisierungsinjection Tiere zugrunde gingen (warhscheinlich Fremdkörperembolie). Als Beweis kann auf das Controlltier Lfd. Nr. 6, oder auf das sensibilisierte Tier Nr. 21 (Protokollnummer), die beide direct im Anschluß an die Erstinjection starben, hingewiesen werden. Dadurch wird die Wertung der Resultate tielweise sehr erschwert. Die Sensibilisierungsdosen und auch die Intervalle waren, wie aus Tab. V zu sehen ist, anfangs sehr verschieden. Es war zuerst eine einfache Paracaseinaufschwemmung 1:3 und davon 2 ccm gebraucht. Nachher wurde Paracasein in $n/_{10}$ Na OH-Lösung und in aq. dest. injiciert und noch später wurden die Dosen nach Kleinschmidt berechnet. Es wurde nach einer Dosis gesucht, die bessere und sicherere Resultate geben konnte.

Wo eine Controlle mit Paracaseininjection am unbehandelten Tier vorliegt, und wo die Controlle Krankheitserscheinungen ergab, resp. wo das Controlltier starb, ist die Wertung stets sehr vorsichtig in der Tabelle ausgesprochen.*)

Beim Durchsehen der Tabelle ist zu sehen, daß zwei große Versuchsreihen vorliegen, von denen die eine, die mit Paracasein sensibilisierten und mit Paracasein reinjicierten Tiere vorstellt und die zweite die, welche mit Paracasein vorbehandelt und mit Milch reinjiciert waren und endlich ein einziges Tier, das mit Casein nachbehandelt wurde. Was die erste Versuchsreihe anbetrifft, so ergibt sich: bei Meerschweinchen Lfd. Nr. 3 sicher anaphylactischer Tod (auch typischer Obductionsbefund) ebenso auch bei Tier Lfd. Nr. 11, dessen Controlltier allerdings (leichtere) Krankheitserscheinungen hatte. Die Meerschweinchen Nr. 5, 8 und 10 sind wohl kaum als positiv irgendwie verwertbar (Tod wahrscheinlich als Fremdkörperembolie aufzufassen). Die zweite Versuchsreihe — Tiere mit Paracasein sensibilisiert und mit Milch reinjiciert — hat sichere Anaphylaxie gezeigt bei Nr. 2 und 4 wahrscheinliche auch bei Nr. 9. Es ist zu constatieren, daß nie anaphylactischer Tod eingetreten ist, trotz der Milchmenge von 1 ccm, die im Gewicht den (bei Nr. 3 und 11 töt-

*) Das gilt selbstverständlich auch für alle nachfolgenden Tabellen.

lichen) 0,2 gr Paracasein entspricht. Vielleicht spricht gerade bei Nr. 9 auch der große Intervall und die sehr geringe zur Sensibilisierung verwandte Menge des Paracaseins eine Rolle. Wurde die Sensibilisierung mit Paracasein nach Kleinschmidt (jedoch im Gegensatz zu diesem intravenös) vorgenommen, so ergab sich bei Reinjection mit Casein mäßig-schwere Anaphylaxie und bei Reinjection mit Paracasein keinerlei Anaphylaxie (Nr. 13 und 14).

Tabelle VI (siehe S. 38 und 39).

Vorliegende Tabelle berichtet über 7 Versuche und 1 Controlle. Die Sensibilisierung wurde subcutan mit Paracasein ausgeführt; die Dosen waren nach Kleinschmidt berechnet worden. Intervalle stets 21 Tage. Reinjectionen, die mit Milch, Paracasein A, Paracasein B und Casein ausgeführt wurden, haben alle positive Resultate ergeben. Dabei ist zu bemerken: am stärksten scheinen Casein und Paracasein A zu wirken, am schwächsten Milch.

Tabelle VII (siehe S. 40 und 41).

Hier liegen 11 Versuche nebst 4 Controllen vor. Sensibilisierung — stets intravenös — wurde mit Milch vorgenommen (verschieden große Dosen: $^1/_5$ bis $^2/_3$ ccm). Aus der Tabelle, die auch wie Tab. V aus der ersten Arbeitszeit stammt, ist zu sehen, daß anfänglich meist negative oder fragliche Resultate zu verzeichnen waren. Der Grund ist wahrscheinlich in den zur Sensibilisierung genommenen Mengen, wie auch in den variierenden Intervallen (21—67 Tage), die sich zumeist als recht ungeeignete erwiesen, zu suchen.

Zur Reinjection wurden Milch und Paracasein verwendet.

Eine Besserung der Ergebnisse (im Sinne der Anaphylaxie) ist bei den geeigneteren kleineren — Sensibilisierungsdosen zu sehen (von Lfd. Nr. 7 ab). Diese Versuchsreihe gibt wegen der wenigen positiven Resultate, auch wegen der verschieden langen Intervalle, die jeden Vergleich unmöglich machen, kaum Anhaltspunkte, von einer Differenzierungsmöglichkeit zu sprechen.

Tabelle VI.

Sensibilisierung mit Paracasein, subcutan (nach Kleinschmidt).

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Reinjektion mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur vor der zweiten Einspritzung	Temperatur ½ St. nach der zweiten Einspritzung	Wertung des Resultats (in Bezug auf Anaphylaxie)	Bemerkungen
1	1 ccm einer 1% Paracaseinaufschwemmung.	0,4 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	370	66	Tier sehr erregt, krächzt, zittert, sitzt auf einem Ort.	38,8	38,3	leicht positiv.	
2	„	0,4 ccm Paracasein B-Aufschwemmung.	21	385	67	Krämpfe schon am Operationstisch. Legt sich auf die Seite; richtet sich wieder auf; ab u. zu Krämpfe. Gelähmte Hinterbeine. Nach 12 Min. legt es sich auf die Seite. Nach 20 Min. gesträubte Haare, zittert, schwer krank.	38,9	35,7	Positiv.	In 5 40 Stunden ursprüngliche Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 5440.
3	„	0,4 ccm Paracasein A-Aufschwemmung.	21	380	68	Nach 1 Minute: krächzt, hupft, starke Dyspnoe. Nach 3 Minuten: heftigste Krämpfe. Nach 6 Minuten: legt sich auf die Seite; heftigste Krämpfe, scheintot. Nach 10 Minuten richtet sich das Tier etwas auf; schwer krank; gelähmte Hinterbeine.	38,7	35,2	Positiv.	In 7 Stunden die anfängliche Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 7350.

4	1 ccm einer 1% Paracaseinaufschwemmung.	0,4 ccm Milch.	21	350	69	Nach 2 Minuten Kaubewegungen; putzt die Nase. Nach 5 Minuten dieselben Erscheinungen. Nach 10 Minuten schwer krank, matt.	38,9	35,7	Positiv.	
5	„	0,4 ccm Caseinlösung (0,03 gr. Casein in 1 ccm n/10 NaOH).	21	350	70	Gleich nach der Injektion sehr erregt. Geht auf hohen Hinterbeinen, hupft. Krämpfe; legt sich auf die Seite. In 2 Minuten tot.	39,1	†	Positiv.	Obduktion: Stark geblähte Lunge, Herz in systolisch. Stellung. Leber blutreich.
6	„	0,4 ccm Paracaseinlösung B (in n/10 NaOH).	21	335	71	Nach 1 Minute: krächzt. Kaubewegungen. Zähneklappern. In 5 Min. schwer krank, matt, sitzt mit gesträubten Haaren.	38,7	37,1	Positiv.	
7	„	0,4 ccm Paracaseinlösung A (in n/10 NaOH).	21	370	72	Nach 1 Minute Zuckungen, krächzt. Parese der Hinterbeine; dreht sich um, hupft, legt sich auf die Seite. Heftige Krämpfe. Typischer Tod in 5 Minuten.	39,0	†	Positiv.	Obduktion: Lungen gebläht, Herz systolisch, Leber blutreich.
8	— Kontrolle zu Protokoll Nr.Nr. 67, 68, 71, 72.	0,4 ccm Paracaseinlösung B (in n/10 NaOH).	—	350	72a	Keine Krankheitserscheinungen.	38,6	38,4	—	

Tabelle VII. Sensibilisierung mit Milch, intravenös.

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Reinjektion mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur vor der zweiten Einspritzung	Temperatur $^1/_2$ St. nach der zweiten Einspritzung	Wertung des Resultats (im Sinne der Anaphylaxie)	Bemerkungen
1	2 ccm Milch 1 : 3.	5 ccm Milch 1 : 5.	31	230	8	Keine Krankheitserscheinungen.	39,2	37,8	? Negativ	Nach 52 Stunden — tot. Obduction: Sulziges Oedem der Brust- und Bauchhaut, besonders der linken Thoraxseite. Milz blutreich etwas vergrössert. Nebennieren stark vergrössert und mit Blut durchsetzt. Lunge zeigt keine deutliche Blähung.
2	„	„	21	330	9	„	38,4	38,7	Negativ	
3	„	„	41	320	10	„	39,2	39,0	Negativ	
4	„	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiolog. NaCl-Lösung.	67	370	11	Leichte Krankheitserscheinungen.	38,9	34,0	? Siehe Kontrolle	Nach 4 Stunden ursprüngliche Temperatur. Shockgrösse nach H. Pfeiffer: Se = 5880.
5	— (Kontrolle) zu Protokoll Nr. 11.	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiolog. NaCl-Lösung.	—	370	22a	„	38,8	35,3	—	Nach 3^{50} Stunden ursprüngliche Temperatur.
6	2 ccm Milch 1 : 3.	Intracardiale Reinjection von 5 ccm Milch 1 : 5.	41	370	12	Keine klinischen Erscheinungen.	39,0	38,3	? $\pm$	
7	2 ccm Milch 1 : 10.	1 ccm Milch.	26	380	26	Nicht schwere Krankheitserscheinungen.	38,9	36,7	schwach positiv	

8	2 ccm Milch 1:10	5 ccm Milch 1:5.	25	365	27	Die Krankheitserscheinungen sind als nicht schwere zu bezeichnen.	38,8	36,3	schwach positiv	
9	„	1 ccm Milch.	26	360	28	Keine klinischen Erscheinungen.	38,8	36,5	ebenso	
10	„	5 ccm Milch 1:5.	27	335	29	„	38,9	38,2	? ±	
11	„	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiolog. NaCl-Lösung.	27	320	30	Starke Zuckungen; in wenigen Sekunden tot.	38,7	†	Positiv	Obduction: Schlagendes (nur ganz wenig dilatiertes) Herz und stark geblähte Lunge.
12	— (Kontrolle zu Protokoll Nr. 30.)	0,2 gr. Paracasein in 4,8 ccm physiolog. NaCl-Lösung.	—	270	30a	Leichte Zuckungen; gleich nach der Injektion sehr munter, läuft herum, zeigt keine klinischen Erscheinungen.	39,3	37,3	—	In 2 Stunden ursprüngliche Temperatur.
13	— (Kontrolle zu Protokoll Nr. 30).	„	—	300	30b	Bei der Injektion schon starke Zuckungen. Vom Operationstisch tot entfernt.	38,4	† (Tod durch Luft-Embolie?)	—	Bei der Injektion waren die oberflächlichen Venen beiderseits eingerissen; Injektion geschah in die rechte tiefliegende Vene. Obduction: Schlagendes deutlich dilatiertes Herz. Keine Spur von Lungenblähung.
14	— (Kontrolle zu Protokoll Nr. 30).	„	—	265	30c	Keine Krankheitserscheinungen.	39,2	39,4	—	Injektion ist glatt gegangen.
15	2 ccm Milch 1:10.	5 ccm Milch 1:5.	24	390	35	Leichte Krankheitserscheinungen.	38,9	35,6	Positiv	Nach 4 Std. ursprüngl. Temperatur. Shockgrösse nach H. Pfeiffer: Se = 3960.

Tabelle VIII.

Sensibilisierung mit Milch (nach Kleinschmidt).

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Art der Sensibilisierung	Reinjektion mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur vor	Temperatur nach ½ St. der zweiten Einspritzung	Wertung des Resultats im Sinne der Anaphylaxie	Bemerkungen
1	1 ccm Milch 3:10	Subcutan	0,03 gr. Paracasein in 1,5 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	390	57	Gleich nach der Injektion starke Krämpfe, Hupfen. Typischer anaphylactischer Shock und Tod.	38,5	†	Positiv.	Obduktion zeigt typische Lunge, etwas rosa verfärbt. Herz — Spur von Dillatation.
2	— (Kontrolle) zu Protokoll Nr. 57.	—	Injektion von 0,03 gr. Paracasein in 1,5 ccm Gesamtflüssigk.	—	350	57a	Keine Krankheitserscheinungen. Das Tier läuft munter herum. Keine Beeinflußung.	37,7	37,5	—	
3	1 ccm Milch 3:10	Subcutan	0,5 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	350	58	Schon beim Unterbinden der Vene starke Krämpfe. Auf dem Boden — Hupfen, starke Krämpfe, legt sich bald auf die Seite; in wenigen Sekunden tot.	38,9	†	Positiv.	Obduktion zeigt typische Lunge, kleines (systolisches) Herz (schlägt noch). Leber mäßig blutreich.
4	„	Intravenös	0,5 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	340	59	Beim Zuschließen der Operationswunde schon starke Krämpfe. Am Boden dauern die Krämpfe fort, Hupfen, typischer Shock. In wenig. Sek. tot.	39,0	†	Positiv.	Obduktion zeigt sehr typische Lunge; Herz schlägt etwas dilatiert. Leber mäßig blutreich.

5	1 ccm Milch 3;10	Subcutan Intravenös	0,03 gr. Paracasein in 1,5 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	300	60	Gar keine klinische Erscheinungen. Tier ganz munter. Keine Spur von Beeinflußung.	38,6	39,0	Negativ.	
6	„		0,5 ccm einer 3,2% Caseinlösung.	21	365	62	Zuerst läuft das Tier munter herum; aber in wenigen Minuten höchstens 3) fängt es an zu hupfen, bekommt starke Krämpfe die ungefähr 2—3 Minuten andauern. Allmählich geht das Tier zu Grunde.	38,9	†	Positiv.	Obduktion: Typische Lunge. Kleines (systolisch.) schlagendes Herz.
7	„	Subcutan	0,03 gr. Paracasein in 1,5 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	390	63	In wenigen Sekunden bekommt das Tier starke Krämpfe, hupft, typischer Shock; gleich tot.	38,5	†	Positiv.	Obduktion: Typische Lunge. Herz schlägt. etwas dilatiert.

Tabelle VIII (siehe S. 42 und 43).

Hier liegen 6 Versuche und 1 Controlle vor.

Vier Tiere sind subcutan, 2 Tiere intravenös mit Milch sensibilisiert. Dosen sind nach Kleinschmidt berechnet. Intervalle stets 21 Tage. Die Reinjectionen wurden mit Casein, Milch und Paracaseinaufschwemmungen ausgeführt. Von den 2 intravenös sensibilisierten Tieren wurde das eine mit Milch, das andere mit Paracasein reinjiciert, wobei das erste unter typischen Erscheinungen (auch typischem Obductionsbefunde) starb; indessen das zweite gar keine klinischen oder sonstigen anaphylactischen Erscheinungen zeigte.*)

Bei den 4 subcutan sensibilisierten Tieren ist sicher anaphylactischer Tod zu constatieren (s. Obductionsbefunde).

*) Die Lfd. Nr. 13 und 14 in der Tabelle V bieten dasselbe Bild: Kleinschmidt'sche Dosen, intravenöse Sensibilisierung, Reinjection mit Casein- und Paracaseinlösungen; positiver Befund bei dem ersten negativer beim zweiten (mit Paracasein nachbehaltetem Tiere.)

Tabelle IX (siehe nächste Seite).

Vorliegende Tabelle enthält 4 Versuche.*)

Sensibilisierung wurde intravenös mit chem. rein. Casein ausgeführt. Dosen wurden in aufsteigenden Mengen (0,025 gr., 0,05 gr., 0,1 gr.) genommen. Intervalle ziemlich lang und verschieden (von 44 bis 57 Tagen). Von den 4 vorliegenden Versuchen ist nur einer (Lfd. Nr. 3) schwach positiv ausgefallen. Diese Versuchsreihe stammt auch aus der ersten Arbeitszeit.

*) Controllen waren hier nicht angestellt wegen der Reinjectionen mit Milch, da einfache Milcheinspritzungen nie von Krankheitserscheinungen begleitet waren. Besredka (31) gibt Fälle an, wo Tiere am nächsten Tag nach der Erstinjection von Rohmilch zu Grunde gingen (mit der Anaphylaxie aber hat dies gar nicht zu tun.)

Tabelle IX. Sensibilisierung mit Casein, chem. rein.

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Art der Sensibilisierung	Reinjektion mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur vor der zweiten Einspritzung	Temperatur ½ St. nach der zweiten Einspritzung	Wertung des Resultats im Sinne der Anaphylaxie	Bemerkungen
1	0,025 gr. chem. rein. Casein gelöst in 0.5 ccm n/10 NaOH in 3 ccm Gesamtflüssigkeit.	Intravenös	5 ccm Millch 1 : 5.	57	380	13	Keine Krankheitserscheinungen.	38,9	38,8	Negativ	
2	0,05 gr. chem. rein. Casein in 1 ccm n/10 NaOH gelöst in 3,5 ccm Gesamtflüssigkeit.	„	5 ccm Milch 1 : 5.	44	300	14	Keine Krankheitserscheinungen.	39,1	38,9	Negativ	
3	„	„	5 ccm Milch 1 : 5.	56	300	15	Ganz leichte Zuckungen und fortwährendes Zittern während 10 Minuten. Nachher erholt sich allmählich das Tier.	39,0	38,1	schwach positiv	Nach 9 Tagen wird das Tier tot aufgefunden.
4	0,1 gr. chem. rein. Casein in 2 ccm n/10 NaOH gelöst, in 4,5 ccm Gesamtflüssigkeit.	„	5 ccm Milch 1 : 5.	57	310	16	Keine Krankheitserscheinungen.	38,7	38 4	Negativ	

Tabelle X.

Sensibilisierung nach Kleinschmidt mit Casein, chem. rein.

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Art der Sensibilisierung	Reinjektion mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw.	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur der zweiten Einspritzung vor	Temperatur der zweiten Einspritzung nach ½ St.	Wertung des Resultats (im Sinne der Anaphylaxie)	Bemerkungen
1	1 ccm einer 1% Caseinlösung.	Intravenös	2,5 ccm Paracaseinlösung.	21	390	42	Gleich nach der Injektion starke Krämpfe, legt sich auf die Seite. Erholt sich nur allmählich. Sehr schwere Krankheitserscheinungen.	38,7	36,3	Positiv.	In 4¼ Stunden ursprüngl. Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 3060.
2	„	„	0,4 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	395	43	Gleich nach der Injektion starke Krämpfe. Typischer anaphylact. Shock. In wenigen Sekunden tot.	38,9	†	Positiv.	Obduktion: Sehr stark geblähte Lunge. Spur von Herzerweiterung.
3	„	Subcutan	0,4 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	21	380	44	Leichte Krankheitserscheinungen. Kratz- und starke Kaubewegungen. Sitzt stumpfsinnig auf einem Ort. Erholt sich nur sehr langsam.	39,0	37,5	Positiv.	In 4½ Stunden ursprüngl. Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 1825.

4	1 ccm einer 1% Caseinlösung	Subcutan	0,6 ccm Milch.	21	390	47	Leichte Krankheitserscheinungen. Sitzt stumpfsinnig auf einem Orte, leicht gesträubte Haare. Erholt sich sehr langsam.	39,5	37,6	Positiv.	In 5½ Stunden ursprüngl. Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 3135.
5	„	„	1 ccm Milch.	„	385	45	Gleich nach der Injektion typischer anapylaktischer Shock. In wenigen Sekunden geht das Tier zu Grunde.	39,1	†	Positiv.	Obduktion: Sehr stark geblähte Lunge. Herz erweitert (mäßig).
6	„	„	2,5 ccm Paracaseinlösung.	„	385	46	Leichte Krampfbewegungen. Sonst keine Erscheinungen.	38,8	36,8	Positiv.	In 4¼ Stunden ursprüngl. Temperatur. Shockgröße nach H. Pfeiffer Se = 2550.
7	„	„	„	„	400	48	Schon während der Injektion starke Krämpfe. In 1 Minute tot.	38,3	†	Positiv.	Obduktion: Herz etwas erweitert. Lunge sehr stark gebläht, ganz blaß.

Tabelle X (siehe S. 46 und 47).

Hier liegen 7 Versuche vor. Sensibilisierung mit Casein, 5 subcutan, 2 intravenös. Dosen und Intervalle nach Kleinschmidt, auch Shockgröße nach H. Pfeiffer.

Von den zwei intravenös sensibilisierten Tieren wurde das eine mit Milch (Lfd. Nr. 2), das andere (Lfd. Nr. 1) mit Paracaseinlösung nachbehandelt. Das erste starb anaphylactisch, das zweite war schwer krank. Auch hier ist zum dritten Male zu constatieren, daß bei intravenöser Sensibilisierung mit Kleinschmidt'schen Dosen sich viel stärkere Erscheinungen im Sinne der Anaphylaxie bei der Reinjection mit Milch (Tab. VIII Lfd. Nr. 4) und Casein (Tab. V Lfd. Nr. 13) als mit Paracasein (Tab. VIII Nr. 5 und Tab. V Nr. 14) sich zeigen. Die 5 subcutan sensibilisierten Tiere zeigten sicher anaphylactische Erscheinungen (unter ihnen starben zwei Lfd. Nr. 5 und 7 anaphylactisch). Die Reinjection mit steigenden Milchdosen ergab erst bei 1 ccm typischen Tod (Lfd. Nr. 5).

Auch aus dieser Reihe läßt sich zum mindesten keine stärkere Wirkung der Milch bei der Reinjection herauslesen.

Tabelle XI. Sensibilisierung nach Doerr-Ruß mit Casein, chem. rein.

Laufende Nr.	Sensibilisiert mit	Art der Sensibilisierung	Reinjection mit	Intervall in Tagen	Gewicht	Protokoll-Nr. d. Meerschw	Klinisches Ergebnis am Meerschweinchen	Temperatur vor der zweiten Einspritzung	Temperatur ½ St. nach der zweiten Einspritzung	Wertung des Resultats (im Sinne der Anaphylaxie)	Bemerkungen
1	1 ccm einer 0,1% Lösung von chem. rein. Cas.	Intraven.	1,5 ccm Milch.	10	340	49	Gleich nach der Injektion starke Krämpfe. In wenigen Sekunden tot.	38,8	†	Positiv	Obduktion: Typische Lunge, erweitertes Herz.
2	„	„	1,5 ccm Milch.	10	345	50	Keine klinischen Erscheinungen.	38,7	38,4	Negativ ?	
3	„	Subcut.	0,6 ccm Milch in 1 ccm Gesamtflüssigkeit.	9	345	54	„	38,7	38,3	Negativ	
4	„	„	1 ccm Milsh.	9	340	51	„	38,9	39,1	Negativ	
5	„	„	1,5 ccm Milch.	9	340	52	In 1 Minute typischer Tod.	38,6	†	Positiv	Obduktion: Typische Lunge, blutreiche Leber; Herz in systolischer Stellung.
6	„	„	1,5 ccm Milch.	9	330	53	Keine klinischen Erscheinungen.	38,9	39,0	Negativ	
7	„	„	0,4 gr. Paracasein in Aufschwemmung.	9	340	55	Das Tier tot vom Operationstisch heruntergenommen.	38,7	†	Negativ (Embolie? s. Obduktion).	Obduktion: Vergrössertes Herz. Vielleicht eine Spur (?) von Blähung.
8	„	„	0,2 gr. Paracasein in Aufschwemmung.	9	340	56	„	38,7	†	ebenso.	Obduktion: Herz vergrössert, Lunge nicht gebläht.

Tabelle XI (siehe S. 49).

Hier liegen 8 Versuche vor. Sensibilisierung mit Casein; 2 Tiere intravenös, 6 subcutan sensibilisiert. Dosen nach Doerr und Ruß berechnet. Reinjection mit Milch (6 Tiere) und Paracaseinaufschwemmungen (2 Tiere) ausgeführt. Von den zwei intravenös sensibilisierten und mit Milch nachbehandelten Tieren ist ein Versuch (Lfd. Nr. 1) positiv und der andere (Lfd. Nr. 2) wahrscheinlich negativ ausgefallen. Von den 6 subcutan sensibilisierten Tieren wurden 4 mit Milch u. 2 mit Paracaseinaufschwemmungen nachbehandelt. Darunter haben die mit Milch nachinjicierten Tiere einen positiven und 3 negative Resultate gezeigt. Die zwei mit Paracasein reinjicierten Tiere starben (wie auch die Obduction ergab) sicher nicht anaphylactisch — noch auf dem Operationstisch.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind wahrscheinlich deshalb so schlecht ausgefallen, weil (wie es sich später herausgestellt hat) gerade diese Tiere mit den Milchresten aus der Milchküche der Klinik gefüttert wurden. Auf diesem Wege (oralem) hat sich wahrscheinlich ein antianaphylactischer Zustand gebildet (Besredka's Versuche!)

Mit dieser Tabelle (XI) schließen die anaphylactischen Versuche ab. Insgesamt wurden (mit den Controllen) 63 anaphylactische Versuche vorgenommen.

Aus dem Studium aller 7 Tabellen ergibt sich, daß es mir nicht gelungen ist mit der anaphylactischen Methode die Differenzierung von Casein und Paracasein durchzuführen.

Diese beiden Stoffe stehen sich so nahe, daß es schon von vornherein anzunehmen war, daß eine Differenzierung auf anaphylactischem Wege mißlinge.

Auch die Praecipitationsmethode hat sich in dieser Differenzierungsfrage als ungenügendes Reagens herausgestellt.

Die Complementbindungsmethode wäre nach meinen Versuchen am besten brauchbar für diesen Zweck gewesen. Sie hat ja eine typische Stufenfolge der Ablenkung für Casein und Paracasein gegenüber den Antiseren ergeben. Diese Resultate wurden aber nur für uns genau bekannte quantitative Verhältnisse erreicht.

Für mich handelt es sich ja im wesentlichen um die Entscheidung der Frage, ob in den „Caseinbröckeln" der Säuglingsfaeces Casein oder Paracasein enthalten ist; nun sind uns einerseits die quantitativen Verhältnisse des Caseins resp. des Paracaseins in den „Caseinbröckeln" völlig unbekannt. Aus diesem Grunde schon wäre die Anstellung des Complementbindungsversuches mit Stuhlbröckelfilt-

rat ziemlich aussichtslos. Andererseits scheint überhaupt nicht opportun, sich dieser Methode beim Arbeiten mit Caseinflocken zu bedienen. Uffenheimer hat bereits in der ersten Mitteilung darauf hingewiesen, daß die Untersuchung der Bröckel mit dieser Methode unterlassen wurde, „weil bekanntlich eine Complementbindung außer durch das Zusammentreffen von Antigenen und Antikörpern, durch alle möglichen Dinge stattfinden kann, die Stuhlflocken aber ein solches Mixtum compositum darstellen, daß man den hieraus resultierenden Fehlerquellen lieber von vornherein aus dem Wege ging."

Nach allen diesen Resultaten und Ueberlegungen mußte man wohl annehmen, daß mit der biologischen Methodik keine Antwort auf die aufgestellte Frage, ob sich Casein oder Paracasein in den Bröckeln finde, zu erhalten ist.

Der Nachweis des Caseins in den Faeces gedeihender Kinder.*)

Wie am Anfang der vorliegenden Arbeit erörtert wurde, ist die Frage vom Nachweis des Caseins in den Faeces gedeihender Säuglinge von Uffenheimer (l. c. S. 60) gestellt worden. Da ich kurz den Inhalt der Arbeit von Uffenheimer und Takeno, worin Casein in den Faeces ernährungskranker Kinder nachgewiesen ist, schon geschildert habe, so will ich jetzt zur Besprechung eigener Untersuchungen an den Faeces gedeihender Säuglinge übergehen.

Da sich in der Kinderklinik solches Material naturgemäß kaum findet, so habe ich die nötigen Stühle aus dem Säuglingsheim München-Lachnerstraße bezogen.

Die Herren Hofräte Meier und Rommel haben mir in liebenswürdiger Weise den Zutritt zu den Laboratorien des Heimes möglich gemacht und Frl. Dr. Lutz hat die Güte gehabt, mir das Stuhlmaterial von den besser gedeihenden Kindern auszuwählen und mir zur Verfügung zu stellen. Dafür spreche ich Ihnen an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

Wie aus den Krankengeschichten der vorliegenden Kinder zu sehen ist, handelte es sich ausschließlich um gut gedeihende Säuglinge. Während der Untersuchungen waren mir die Krankengeschichten aller Kinder, auch die Art der Ernährung, völlig unbekannt, damit jede Beeinflussung von vornherein ausgeschlossen war. Nur am Ende der Versuche, als deren Wertung längst vorgenommen war und die Tabellen zusammengestellt werden sollten, nahm ich Einblick in die Krankenge-

*) Siehe Tabelle XII S. 54—57.

schichten, und dann erst habe ich aus diesen alles für mich Nötige und Wichtige herausgenommen. Die Untersuchungen wurden nur mit der Praecipitationsmethode angestellt, weil diese Methode sich als sehr geeignet bei Uffenheimer-Takeno erwiesen hat. Wie man noch sehen wird, wurden nicht alle Proben als brauchbar in die Tabelle eingetragen;*) auch bei diesen wurde noch immer das Mikroskop herangezogen zur Entscheidung, ob der Niederschlag spezifischer Natur war (echtes Praecipitat) oder nicht.

Am Anfang wurden die Versuche wesentlich beeinträchtigt durch Niederschläge, die sich auch in den Controllen fanden, obwohl man an der Art und Stärke der Niederschläge fast stets ganz leicht unterscheiden konnte, was Probe und was Controlle war. In die Tabelle sind alle diese ersten Versuche nicht eingetragen. Erst später, als die Technik der Verdünnungen der Stühle einwandfrei war, d. h. als die Stuhlcontrollen trotz Centrifugierens keinen Niederschlag mehr aufwiesen, konnten die Proben mit Sicherheit verwertet werden. (Nur diese figurieren in der Tabelle XII.) Die Technik war folgende: von den Stühlen, die am Tag ihrer Entleerung zur Untersuchung gelangten, wurden die Caseinbröckel herausgefischt und dann in 3 ccm $n/_{10}$ Na OH-Lösung in einem sterilen Mörser fein verrieben (s. auch Uffenheimer-Takeno). Nachdem das Product in ein kleines, steriles Centrifugengläschen gebracht war, wurde es 3 mal centrifugiert, bis es keinen Niederschlag mehr aufwies. Darnach wurden mit den Verdünnungen der verdächtigen Stuhlflocken Proben angestellt mit einem Lactoserum 1:320 um einem Paraserum 1:300. Die letzten Versuche sind sogar mit noch etwas stärkeren Antiseren angestellt.

Von den insgesamt rund 40 Untersuchungen wurden in die Tabelle nur 18 (von 12 Kindern im Alter von 1 bis 8 Monaten) eingetragen, Versuche bei denen — wie gesagt — auch die Controllen einwandfrei waren; fast alle (16) diese Untersuchungen ergaben positive Resultate. Fraglich sind nur 2 Kinder (Protokoll Nr. 7 und 8) bei welchen während des Centrifugierens beide Röhrchen mit Lactoserumproben zerbrachen und die Paraserumproben negativ ausgefallen sind. Bei Säugling Primetz (Protok. Nr. 7) war noch vorher eine Probe mit Lactoserum angestellt (Prot. Nr. 18) worden, die sich nicht in der Tabelle findet und die als + + bezeichnet ist mit der Notiz: „Vielleicht etwas stärker als Controlle." Bei Kind Schwabersberger (Prot. Nr. 8) ist zu bemerken, daß es zur Zeit der Untersuchung 400 gr. Brustmilch und nur 100 gr Rohmilch bekam, also vielleicht deshalb negativ reagierte.

*) Von etwa 40 wurden nur 18 verwertet.

Beim Durchsehen der Tabelle ist gleich zu sehen, daß am meisten positive Resultate die Proben mit Lactoserum gegeben haben, und daß die Paraserumproben stets viel schwächer ausfielen. Am häufigsten sehen wir bei Lactoserumproben (Gesamtzahl 16) ┼ ┼ ┼ (sehr starke Niederschläge) und nur einmal ± (bei Kind Engl, Protok. Nr. 12) notiert. Die Paraserumproben dagegen (Gesamtzahl 14) haben nie sehr starken Niederschlag (┼┼┼) aufweisen können; starke Reaction (┼┼) war nur in 3 Fällen (Protok. Nr. 3, 4 und 10) zu verzeichnen, während acht Untersuchungen als negative oder fragliche bezeichnet werden mußten. Die Lactoserumproben sind also nie deutlich negativ ausgefallen, während dies bei den Paraserumproben häufig der Fall war*) (6 mal von 14 Untersuchungen). Dabei ist zu bemerken, daß Serumcontrollen (wie Lacto- so auch Paraserumcontrollen) für jeden Versuch angestellt waren; sie sind nur wegen Mangel an Platz in der auch so groß gewordenen Tabelle nicht eingetragen worden. Diese Controllen waren stets einwandfrei negativ.

Bei den positiv ausgefallenen Proben wurden stets die Niederschläge mikroskopisch untersucht und zeigten jedesmal das typische Bild eines echten Praecipitates, wie es Uffenheimer (32) beschrieben hat. Nach dem Mitgeteilten enthalten also die Faeces von gut gedeihenden Kindern fast immer Casein (Nachweis mittelst Lactoserum); sie geben aber auch manchmal eine, wenn auch viel schwächere, Reaction mit Paraserum.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nicht verfehlen, Herrn Prof. Dr. v. Pfaundler für die Ueberlassung eines Arbeitsplatzes, sowie Herrn Docenten Dr. Uffenheimer für die Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Unterstützung meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

---

*) Dieses gegensätzliche Verhalten der beiden Antisera paßt gut zu den im ersten Teil der Arbeit mitgeteilten Beobachtungen.

Tabelle XII.
Casein-Nachweis in den Stühlen gedeihender Kinder.

Laufende Nr.	Name des Kindes	Alter zur Zeit der Untersuchung	Krankengeschichte	Protokoll Nr.	Gewichts-Verhältnisse	Ernährung zur Zeit der Untersuchung	Datum der Untersuchung	Geprüft mit: Lacto-serum	Geprüft mit: Para-serum	Stuhlkontrolle
1	Theer Kurt	5½ Mnt.	Familie gesund. 14 Tage lang Brust, dann allaitement nixte mit verdünnter Milch. Ziemlich kräftiges Kind in gutem Ernährungszustand. Deutliche Hydrozelle beiderseits. Stühle etwas dünn (bei der Aufnahme).	17	Gewichtszunahme sehr gut. Aufgenommen mit Gewicht 3320 gr. (11. 3.). 5700 gr. zur Zeit der Untersuchung.	800 gr. Vollmilch, 30 gr. Nähr-Zucker, 200 gr. Hofmannsbrei.	3. Juli	+ +	Negativ	⊖
2	Scheidemantel Anna	3 Mnt.	Mutter angeblich lungenkrank. Vater gesund. 8 Tage Brust, dann im Gisela-Spital. Nachher zu Hause. ⅓ Milch — Erbrechen und schlechte Stühle. Kleines, aber gut entwickeltes und gut ernährtes Kind.	20	Aufgenommen am 25. 3. Gewicht 2740 gr. Am 11. Juli Gewicht 4190 gr.	900 gr. Eiweiss-Milch, 7½—10% Malzsuppe.	11. Juli	+ + +	+ Spur	⊖
3	Oettl Fritz	8 Mnt.	Familie gesund. 6 Wochen Brustmilch, dann Hafermehl mit Milch, Nestlé. Immer schlechtes Gedeihen. Zuletzt Eichelkaffee. Unterernährtes sehr mageres Kind. Turgor vermindert. Stühle normal. Diagnose bei der Aufnahme: Dyspepsie, Eutrophie.	21	Aufgenommen mit Gewicht 5280 gr. am 15. 6. Zur Zeit der Untersuchung Gewicht 6160 gr.	1200 gr. Gesamtnahrung. 1000 gr. Milch mit 40 gr. Nährzucker, Hofmannsbrei, Schleim, Gemüse.	11. Juli	+ + +	+ +	⊖

4	Wühr Maria	4 Mnt. bis 4½ Mnt.	Familie gesund. Kräftiges, gut ernährtes Kind. Leichter Nabelbruch. Leichte Intertrigo. Stuhlgang gut.	22 bis 30	Aufgenommen mit Gewicht 3700 gr. Am 11. 7. Gewicht 4790 gr. Am 25. 7. Gewicht 5040 gr.	1. Untersuchung: 900 gr. Schleim-Milch, 30 gr. Nährzucker.	1. Untersuchung am 11. Juli	+++	++	⊖
						2. Untersuchung: 1000 gr. Schleim-Milch, 30 gr. Nähr-Zucker, 1× Brei.	2. Untersuchung am 25. Juli	+	+ schwach	⊖
5	Rottenfusser Josef-Friedr.	3¾ Mnt. bis 4¼ Mnt.	Mutter — im 3. Monat der Gravidität Bluterbrechen. Vater gesund. Normal entwickeltes Kind; Haut von gutem Turgor, elastisch, ziemlicher Fettpolster; Körperbau proportional. Anfgenommen am 3. Tag nach der Geburt.	23 bis 33	Gewicht am 20. 3. 3320 gr. Gewicht am 11. 7. 5020 gr.	1. Untersuchung: 1000 gr. Schleim-Milch, 5 % Nährzucker.	11. Juli	+	± ?	⊖
				36	Gewicht am 26. 7. 5120 gr.	2. und 3. Untersuchung: 1000 gr. Schl.-Milch, 5 % Nährzucker, darunter 1× Brei.	26. Juli	+++	+ deutlich	⊖
							27. Juli	++	——	⊖
6	Schwarz Markus	2½ Mnt.	Partus praematurus. Eutrophie. Aufgenommen am 4. Tag nach der Geburt. Bisher Rollgerstenschleim in kleinen Mengen. Frühgeburt, aber relativ kräftiges Kind. Starker Icterus. Mekoniumstuhl.	24	Gewicht am 29. 4. 2070 gr. Gewicht am 11. 7. 3200 gr.	700 gr. Eiweiss-Milch, 4 % Nährzucker.	11. Juli	+++	⊖	⊖
7	Primetz Therese	8 Mnt.	Zwillingskind (anderer Zwilling †). Weitere Angaben fehlen. Schwächliches kleines Kind, kleine Nabelhernie, zarte Haut. Eutrophie.	25	Gewicht am 1. 2. 2380 gr. Gewicht am 11. 7. 5225 gr.	1000 gr. Gesamtnahrung: 400 gr. Rohmilch, 400 gr. Schleim mit 20 gr. Nährzucker, Hoffmannsbrei.	11. Juli	—— (früher bei Versuch 18 ++ mit Notiz: „Vielleicht etwas stärker als Kontrolle").	⊖	⊖

(Fortsetzung siehe nächste Seite.)

Tabelle XII (Fortsetzung).

Laufende Nr.	Name des Kindes	Alter zur Zeit der Untersuchung	Krankengeschichte	Protokoll Nr.	Gewichts-Verhältnisse	Ernährung zur Zeit der Untersuchung	Datum der Untersuchung	Geprüft mit: Lacto-serum	Geprüft mit: Para-serum	Stuhlkontrolle
8	Schwabersberger Maria	1 Mnt.	Anamnese fehlt. Mittelgrosses Kind in gutem Ernährungszustand; guter Turgor. Am ganzen Körper bei der Aufnahme ein kleinfleckiges maculöses Exanthem. Stühle fest, leicht obstipiert. Eutrophie.	26	Gewicht am 27. 6. 3270 gr. Gewicht am 11. 7. 3460 gr.	500 gr. Gesamtnahrung: 400 gr. Brustmilch, 100 gr. Rohmilch mit 5 % Nährzucker.	11. Juli	—	○	○
9	Wegner Maximilian	7½ Mnt.	Väterliche Aszendenz mit Tbc. belastet. Zwillingskind (beide leben, gesund). 7 Tage Brust, dann schlechter Kostplatz; Rollgerstenschleim, Eichelkaffe, Reisschleim; Schleimige Stühle bei der Aufnahme. Kleines Kind in mittlerem Ernährungs-Zustand. Rachitischer Rosenkranz.	27	Gewicht am 13. 5. 3720 gr. Gewicht am 11. 7. 4400 gr.	800 gr. Milch, 20 gr. Nährzucker, 1× Brei.	11. Juli	+ +	—	○
10	Klein Franziska	4½ Mnt.	Anamnese fehlt. Ziemlich blasses Kind, aber in gutem Ernährungszustand. Follikulitiden über dem ganzen Körper (von geringer Heftigkeit) bei der Aufnahme.	28	Gewicht am 30. 5. 3425 gr.	800 gr. Eiweissmilch, Eichel-Kaffee 3 %.	25. Juli	+ + +	+ +	○
				37	Gewicht am 26. 7. 3970 gr.		27. Juli	+ + +	—	○

11	Hillmeier Hermine	$1^3/_4$ Mnt.	Anamnese fehlt. Kleines, aber gut proportioniertes Kind. Guter Stuhl. Eutrophie.	31 34	Gewicht am 6. 7. 2880 gr. Gewicht am 25. 7. 3000 gr.	800 gr. Rohmilch, Eichel-Kaffee, 4 % Nährzucker.	25. Juli 26. Juli	+ schwach + „	± ? ⊖	⊖ ⊖
12	Engl Ludwig	2 Mnt.	Mutter herz- und lungenleidend. Brust 4 Wochen, dann abgestellt wegen Schwäche der Mutter. Gutes Gedeihen bei $^1/_3$ Schleim-Milch + Rohrzucker. Kräftiges, gut ernährtes Kind.	32 38	Gewicht am 8. 7. 4500 gr. Gewicht am 26. 7. 4770 gr.	1000 gr. Gesamtnahrung: 450 gr. Schleim-Milch, 450 gr. Rohmilch mit 5% Nährzucker, 20 gr. Zwieback.	26. Juli 27. Juli	± +	⊖ ——	⊖ ⊖

Literatur.

1. Uffenheimer und Takeno: „Der Nachweis des Caseins in den „sogenannten" Caseinbröckeln des Säuglingsstuhles mit Hilfe der biologischen Methodik, insbesondere der Anaphylaxie". Zeitschr. f. Kinderheilk., Bd. II, H. 1, S. 32, 1911.
2. Hamburger: „Biologische Untersuchungen über die Milchverdauung beim Säugling". Jahrb. für Kinderheilk. III. F., 12, S. 479.
3. Knoepfelmacher: „Untersuchungen über Caseinflocken". Wiener klin. Wochenschr. 1899, Nr. 41.
4. Talbot: „Casein-Gerinnsel im Kinderstuhle." Jahrbuch für Kinderheilkunde. III. F., 23. S: 159.
5. Kirchner: „Handbuch der Milchwissenschaft." Berlin.
6. König: „Chemie der menschl. Nahrungs- und Genussmittel."
7. Hammarsten: „Ueber die Milchgerinnung und die dabei wirkenden Fermente der Magenschleimhaut". Maly's Jahrb. 1872, S. 118.
8. Hammarsten. „Ueber den chem. Verlauf bei der Gerinnung des Caseins mit Lab." Ebenda, 1874, S. 135.
9. Hammarsten. „Z. K. des Caseins und d. Wirkung d. Labfermentes". Maly's Jahrb. 1877, S. 158.
10. Hillmann. „Beiträge z. K. d. Einfl. d. Labferments auf die Eiweissstoffe der Milch und zur Bewert. d. Milch f. Käsereizwecke."
11. Fuld. „Ueber die Molkenalbuminose". Biochem. Zeitschr. IV. 488, 1907.
12. Spiro. „Beeinfl. d. Natur d. Labungsvorganges III." Hofm. Beitr. VIII. 355—369.
13. Schlossmann und Engel. „Milchgerinnung" Handbuch d. Biochem. der Menschen und d. Tiere. Herausgeg. v. C. Oppenheimer Bd. III. 1. Teil.
14. P. Th. Müller. „Vergleichende Studien über d. Gerinnung d. Caseins d. Lab und Lactoserum". Arch. f. Hygiene Bd. 44, H. 2. S. 126.
15. P. Th. Müller. „Weitere Studien üb. d. Fällung d. Caseins durch Lab und Lactoserum." Zentralbl. f. Bacteriologie Bd. 32. 1902, Nr. 7. 521.
16. J. Bauer. „Ueber die Spezifität d. biolog. Eiweissdifferenzierung." Arb. a. d. Institut f. exper. Therapie z. Frankfurt a. M. 1907. H. 3.
17. J. Bauer. „Ueber biologische Milchdifferenzierung." Münchener med. Wochenschrift 1908, Nr. 15.
18. J. Bauer. „Zur Biologie der Milch." Verhandlung. der deutsch. Gesellschaft f. Kinderheilkunde 1909.
19. J. Bauer. „Die Biologie der Milch." Ergebn. d. inner. Medizin und Kinderheilkunde, Bd. 5. 1910. 183.
20. Friedberger. „Kritik d. Theorien über Anaphylaxie." Zeitschr. f. Imm.-Forschg. Bd. II. H. 2.
21. Friedberger. „Ueber d. Anaphylatoxin u. d. anaphylaxieerzeugende Wirkung von antikörperhaltigen Seris". Med. Klinik Nr. 13. 1910.
22. Doerr und Russ. „Studien über Anaphylaxie II." Zeitschr. f. Imm.-Forschung. 1909. Bd. 2. H. 1.
23. Doerr und Russ. „Studien über Anaphylaxie." III. Ebenda, Bd. 3. H. 2.
24. Doerr und Russ. „Studien über Anaphylaxie" IV. Ebenda, Bd. 3. H. 7.

25. H. Pfeiffer. „Ueber d. verschied. Verhalten d. Körpertemperatur n. Injection u. n. Reinjection v. artfremden Serum.“ Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 1.
26. H. Pfeiffer. „Versuchstechnische Bemerkungen z. Nachweis des anaphylactischen Temperatursturzes.“ Ebenda, 1909, Nr. 36.
27. H. Pfeiffer. „Ueber anaphylact. Temperatursturz und seine praktische Bedeutung.“ Sitzungsberichte d. Acad. d, Wissenschaft. Wien III. Abt. Bd. 148. 1909.
28. Pfeiffer und Mita. „Studium über Eiweissanaphylaxie.“ Zeitschr. f. Imm.-Forschung, Bd. IV.
29. Mita. „Ueber d. Verwertbarkeit des anaphylact. Temperatursturzes z. Grössenbestimmung eines Ueberempfindlichkeitsshocks.“ Ebenda, Bd. V.
30. Kleinschmidt. „Die biologische Differenzierung der Milcheiweisskörper“. Monatsschr. f. Kinderheilk. Bd. X. Nr. 8, S. 402, 1911.
31. Besredka. „De l'anaphylaxie.“ (sixième mémoire) de l'anaphylaxie lactique“. Annal. Pasteur 23. 1909. S. 166.
32. Uffenheimer. „Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit der Wandungen des Magendarmkanales neugeborener Tiere für Bacterien und genuine Eiweisstoffe.“

Lebenslauf.

Der Verfasser ist am 17. (30.) Januar 1887 in Meschiroff, Podolsker Gouvernement in Rußland geboren. Im Jahre 1907 hat er die Kommerzschule zu Wilna absolviert und in demselben Jahre wurde er an der medizinischen Fakultät zu Bonn immatrikuliert. Im Sommersemester 1910, während eines Urlaubes, hat er die Reifeprüfung an dem 2. Gymnasium zu Kischineff bestanden und bald darauf sein medizinisches Studium an der Universität zu München fortgesetzt.